

**Untersuchung der natürlichen Schwanzlängenvariation
beim Merinolandschaf als mögliche Zuchtalternative
zur tierschutzrelevanten Praktik des
Schwanzkupierens**

von Kim Saskia Eck

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

**Untersuchung der natürlichen Schwanzlängenvariation
beim Merinolandschaf als mögliche Zuchtalternative
zur tierschutzrelevanten Praktik des
Schwanzkupierens**

von
Kim Saskia Eck
aus München

München 2020

Aus dem Veterinärwissenschaftlichen Department
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Molekulare Tierzucht und Biotechnologie

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:
Priv.-Doz. Dr. Ivica Međugorac,
Arbeitsgruppe Populationsgenomik

Mitbetreuung durch:
Dr. Elisabeth Kunz,
Arbeitsgruppe Populationsgenomik

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. Ivica Međugorac

Korreferent/en: Univ.-Prof. Dr. Gabriela Knubben

Tag der Promotion: 08.02.2020

Meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

INHALTSVERZEICHNIS	I
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	V
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	VIII
TABELLENVERZEICHNIS	IX
ANHANGSÜBERSICHT	XI
1 Einleitung	1
2 Literaturübersicht.....	4
2.1 Die Rasse Merinolandschaf.....	4
2.2 Schwanzkupieren	5
2.2.1 Funktionen des Schwanzes.....	5
2.2.2 Anatomie des Schwanzes	5
2.2.3 Schwanztypen bei Schafen	6
2.2.4 Evolution des langen Schwanzes.....	7
2.2.5 Historische Entwicklung des Schwanzkupierens.....	7
2.2.6 Gründe für das Kupieren	9
2.2.6.1 Prävention von Erkrankungen und Hygiene	9
2.2.6.2 Erleichtertes Management und kosmetische Gründe	11
2.2.6.3 Schwanzbeißen durch Mutterschafe.....	11
2.2.7 Eingesetzte Methoden	11
2.2.8 Problematik des Schwanzkupierens	13
2.2.8.1 Allgemeine Nachteile	13
2.2.8.2 Probleme bei zu kurzem Kupieren.....	13
2.2.9 Rechtliche Lage und Tierschutzproblematik	14
2.2.9.1 Rechtliche Lage in Europa	14
2.2.9.2 Rechtliche Lage in Deutschland.....	15
2.3 Zucht auf kurze Schwänze	16
2.3.1 Natürliche Schwanzlängenvariation	16
2.3.2 Genetik der Schwanzlänge	18
2.3.2.1 Heritabilität der Schwanzlänge	18
2.3.2.2 Vererbung der Schwanzlänge.....	19
2.3.3 Problematik der Kurzschwänzigkeit	20
2.3.4 Introgression aus kurzschwänzigen Rassen	21

2.3.5	Selektion innerhalb einzelner Rassen	22
2.3.6	Direkter oder indirekter Gentest.....	22
2.4	Kartierung von Genen	23
2.4.1	Einteilung von Merkmalen.....	23
2.4.2	Arten von genetischen Markern	24
2.4.2.1	Restriktionsfragment-Längenpolymorphismen.....	25
2.4.2.2	Mikrosatelliten	25
2.4.2.3	Einzelbasenpolymorphismen	26
2.4.3	Genkarten	27
2.4.4	Kopplung, Kopplungsgleichgewicht, Kopplungs-ungleichgewicht	29
2.4.5	Kartierungsmethoden	30
2.4.5.1	Kopplungskartierung	30
2.4.5.2	Kopplungsungleichgewichts-Kartierung.....	30
2.4.5.3	Kombinierte Kopplungsungleichgewichts- und Kopplungskartierung	31
2.5	Phänotypisierung	32
2.5.1	Selektive Phäno- und Genotypisierung.....	32
2.5.2	Phänokopien	33
2.5.3	Korrekturfaktoren für individuelle Körpergröße.....	33
3	Material und Methoden	34
3.1	Material.....	34
3.1.1	Probenmaterial	34
3.1.1.1	Material für die Messreihen.....	34
3.1.1.2	Material für die Kartierung	35
3.1.2	Verwendete Programme	37
3.1.3	Verwendete Datenbanken.....	38
3.1.4	Geräte	38
3.1.5	Verbrauchsmaterialien	39
3.1.6	Chemikalien und Reagenzien	39
3.1.7	Puffer	40
3.2	Methoden	40
3.2.1	Methoden bei der Messreihe	40
3.2.1.1	Erhebung der Messdaten	40
3.2.1.2	Statistische Auswertung der Messdaten	46
3.2.2	Methoden bei der Kartierung	48
3.2.2.1	Erhebung der Phänotypen	48

3.2.2.2	Probenentnahme	49
3.2.2.3	Extraktion der DNA und Messung von Qualität und Quantität	49
3.2.2.4	Kombinierte Kopplungsungleichgewichts- und Kopplungskartierung	50
3.2.2.4.1	Genotypisierung mittels SNP-Chip und Qualitätskontrolle	50
3.2.2.4.2	Haplotypisierung und Imputation	52
3.2.2.4.3	Unified additive relationships (UARs)	53
3.2.2.4.4	Locus IBD und Diplotypen-Verwandtschaftsmatrix	54
3.2.2.4.5	Varianzkomponentenanalyse	54
3.2.2.4.6	Likelihood Ratio Teststatistik	56
3.2.2.4.7	Signifikanzschwelle und Konfidenzintervall	57
4	Ergebnisse	59
4.1	Messreihe	59
4.1.1	Entwicklung der Körpermerkmale	59
4.1.1.1	Schwanzlänge	59
4.1.1.2	Körpergewicht	62
4.1.1.3	Widerristhöhe	67
4.1.1.4	Proportion Schwanzlänge/Widerristhöhe	69
4.1.1.5	Rückenhöhe	71
4.1.1.6	Körperlänge gemessen mit einem Körmaß und mit einem Maßband	71
4.1.1.7	Längen von Femur, Metakarpus und Anus bis Sprunggelenk	72
4.1.1.8	Einteilung der Schwanzlänge nach OviCap	73
4.1.1.9	Kupierwunde	74
4.1.2	Pearson Korrelationen	74
4.1.2.1	Pearson Korrelationen zwischen der Schwanzlänge und den verschiedenen Körpermerkmalen	74
4.1.2.2	Pearson Korrelationen für die einzelnen Körpermerkmale bei verschiedenem Alter	75
4.1.3	Determinationskoeffizienten der linearen Regressionsanalyse	76
4.2	Ergebnisse der kombinierten Kopplungsungleichgewichts- und Kopplungskartierung	77
5	Diskussion	83
5.1	Bestimmung geeigneter Korrekturfaktoren	83
5.1.1	Kriterien	83

5.1.1.1	Pearson Korrelationen	83
5.1.1.2	Standardfehler und Variationskoeffizient der Wiederholungsmessung.....	83
5.1.1.3	Determinationskoeffizienten der linearen Regression	84
5.1.2	Vergleich der Ergebnisse mit früheren Studien	85
5.2	Bestimmung eines geeigneten Messzeitpunktes	87
5.2.1	Bedeutung des Messzeitpunktes	87
5.2.2	Kriterien für die Auswahl des Messzeitpunktes.....	87
5.3	Wahl der Methode.....	90
5.4	Mögliche Kandidatengene in dieser Studie	90
5.5	Mögliche Kandidatengene in vorangegangenen Studien	96
5.6	Ausblick.....	98
6	Zusammenfassung	101
7	Summary	104
8	Literaturverzeichnis	106
9	Anhang	118
10	Danksagung.....	128

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
Abb.	Abbildung
Abs.	Absetzen
AG	Arbeitsgruppe
Anh.	Anhang
ANOVA	univariate Varianzanalyse
AS	Länge von Anus bis Sprunggelenk
BDZ	Bundesverband Deutscher Ziegenzüchter e. V.
BMEL	Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft
bp	Basenpaar(e)
BTK	Bundestierärztekammer
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
cLDLA	kombinierte Kopplungsungleichgewichts- und Kopplungsanalyse
cm	Centimeter
cM	Centimorgan
CV	Variationskoeffizient
d. h.	das heißt
ddH ₂ O	doppelt destilliertes Wasser
dH ₂ O	destilliertes Wasser
DNA	Desoxyribonukleinsäure
D _{RM}	diplotype relationship matrix
e. V.	eingetragener Verein
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
et al.	et alii/aliae
FL	Länge des Femurs
g	Gramm
Geb.	Geburt
G _{RM}	additive genetic relationship matrix
HMM	Hidden Markov Modell
Hox	Homeobox
IBD	Identity by descent, Herkunftsgleichheit

IBS	Identity by state, Zustandsgleichheit
kb	Kilobase(n)
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
KL	Körperlänge gemessen mit einem Körmaß
KL_m	Körperlänge gemessen mit einem Maßband
l	Liter
LD	linkage disequilibrium, Kopplungsungleichgewicht
LfL	Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität
LocIBD	Locus Identity by descent bzw. Herkunftsgleichheit
LOD	logarithm of the odds
LRT	likelihood ratio test statistic
MAF	minor allele frequency
Max	Maximum
Mb	Megabase(n)
Min	Minimum
Mittel	Mittelwert
ml	Milliliter
ML	Länge des Metacarpus
MLS	Merinolandschaf
mm	Millimeter
n	Grundgesamtheit
n. Chr.	nach Christus
NCBI	National Center for Biotechnology Information
nm	Nanometer
OAR	Schafchromosom
OD	optische Dichte
PBS	phosphatgepufferte Salzlösung
PCR	polymerase chain reaction, Polymerase-Kettenreaktion
QTL	Quantitative Trait Locus
R^2	Determinationskoeffizient
RFLP	restriction fragment length polymorphism, Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus
RH	Rückenhöhe
RNA	Ribonukleinsäure
SD	Standardabweichung

SL	Schwanzlänge
SNP	single nucleotide polymorphism, Einzelbasenpolymorphismus
SSLP	simple sequence length polymorphism, einfacher Sequenzlängenpolymorphismus
Tab.	Tabelle
U/min	Umdrehung(en) pro Minute
UAR	unified additive relationships
v. Chr.	vor Christus
VDL	Vereinigung Deutscher Landesschafzuchtverbände e. V.
VIT	Vereinigte Informationssysteme Tierhaltung w. V.
w. V.	wirtschaftlicher Verein
WH	Widerristhöhe
Wo.	Woche(n)
z. B.	zum Beispiel

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1:	Europäisches Mufflon im Wildpark Poing.....	7
Abbildung 2:	Merinolandschafe im Partnerbetrieb der Studie.....	7
Abbildung 3:	Merinolandschaf-Lamm mit Kotverschmutzung im Schwanzbereich	10
Abbildung 4:	Merinolandschaf-Lamm mit Urinverschmutzung im Schwanzbereich	10
Abbildung 5:	Merinolandschaf-Lamm mit extrem kurzem Schwanz.....	17
Abbildung 6:	Merinolandschaf-Lamm mit extrem langem Schwanz.....	17
Abbildung 7:	Merinolandschaf-Mütter mit deutlicher Schwanzlängenvariation	18
Abbildung 8:	Grafische Darstellung der in dieser Studie angewendeten selektiven Genotypisierung	37
Abbildung 9:	Bromet Körmaß aus dem Hundesport	43
Abbildung 10:	Messung der Widerristhöhe.....	43
Abbildung 11:	Messung der Rückenhöhe.....	44
Abbildung 12:	Messung der Körperlänge gemessen mit einem Körmaß.	44
Abbildung 13:	Angefertigtes Holzbrett zur Messung der Schwanzlänge (gebaut nach Vorlage von Elena Kuhnle)	45
Abbildung 14:	Messung der Schwanzlänge	45
Abbildung 15:	Bestimmung der Schwanzlänge nach dem OviCap-Schema.	46
Abbildung 16:	Funktionsweise BeadChip (Quelle: GUNDERSON et al. (2005))	51
Abbildung 17:	Durchschnittliche Wachstumsrate der Schwanzlänge in cm pro Tag	61
Abbildung 18:	Entwicklung von Schwanzlänge (SL) und Widerristhöhe (WH) in cm	62
Abbildung 19:	Tageszunahmen in g	65
Abbildung 20:	Tageszunahmen in g in Abhängigkeit vom Geschlecht	66
Abbildung 21:	Tageszunahmen in g in Abhängigkeit von der Wurfgröße	66
Abbildung 22:	Durchschnittliche Zunahmen von Widerristhöhe (WH), Rückenhöhe (RH) und Körperlänge gemessen mit einem Körmaß (KL) in cm pro Tag.....	69
Abbildung 23:	Durchschnittliche Längen von Femur (FL), Metakarpus (ML) und Anus bis Sprunggelenk(AS) in cm.....	73
Abbildung 24:	LRT-Kurve auf OAR11	80
Abbildung 25:	<i>Hox</i> -Cluster bei <i>Drosophila</i> und beim Menschen (Quelle: modifiziert nach GOODMAN (2003))	93

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1:	Heritabilitäten für die Schwanzlänge (SL) bei verschiedenen Schafrassen	19
Tabelle 2:	Beprobte Lämmer	36
Tabelle 3:	Programme	37
Tabelle 4:	Datenbanken	38
Tabelle 5:	Geräte.....	38
Tabelle 6:	Verbrauchsmaterialien.....	39
Tabelle 7:	Chemikalien und Reagenzien.....	39
Tabelle 8:	Puffer.....	40
Tabelle 9:	Messverfahren für neun Merkmale, die wöchentlich bei wachsenden Lämmern von der Geburt bis zur achten Lebenswoche gemessen wurden.	41
Tabelle 10:	Modelle der linearen Regressionsanalyse.....	48
Tabelle 11:	Schwanzlänge in cm im Vergleich zwischen Geschlecht und Wurfgröße.....	59
Tabelle 12:	Schwanzlänge in cm unter Berücksichtigung von Wurfgröße \times Geschlecht	60
Tabelle 13:	Körpergewicht in kg im Vergleich zwischen Geschlecht und Wurfgröße.....	63
Tabelle 14:	Körpergewicht in kg unter Berücksichtigung von Wurfgröße \times Geschlecht	64
Tabelle 15:	Widerristhöhe in cm im Vergleich zwischen Geschlecht und Wurfgröße.....	67
Tabelle 16:	Widerristhöhe in cm unter Berücksichtigung von Wurfgröße \times Geschlecht	68
Tabelle 17:	Entwicklung der Proportion Schwanzlänge/Widerristhöhe in Abhängigkeit vom Geschlecht.....	70
Tabelle 18:	Entwicklung der Proportion Schwanzlänge/Widerristhöhe in Abhängigkeit von der Wurfgröße.....	70
Tabelle 19:	Proportion Schwanzlänge/Widerristhöhe unter Berücksichtigung von Wurfgröße \times Geschlecht.....	71
Tabelle 20:	Anzahl der Lämmer in den verschiedenen Ovicap-Stufen	73
Tabelle 21:	Entwicklung der Pearson Korrelationen zwischen der Schwanzlänge (SL) und den weiteren Körpermaßen	74
Tabelle 22:	Entwicklung der Pearson Korrelationen innerhalb der einzelnen Körpermaße zwischen Geburt und den weiteren Messwochen	75
Tabelle 23:	Determinationskoeffizienten der linearen	

	Regressionsanalyse in %	77
Tabelle 24:	Signifikanzschwellen und Peaks	79
Tabelle 25:	Gene im Konfidenzintervall (36.928.058 bp–38.578.071 bp) auf OAR11 (<i>Ensembl</i> Datenbank, <i>Oar_v3.1</i>)	81
Tabelle 26:	Entscheidungskriterien für den besten Messzeitpunkt.....	89

ANHANGSÜBERSICHT

Anhang 1:	Publikation in Small Ruminant Research	118
Anhang 2:	Phänotypisierungsbogen.....	126

1 Einleitung

Wie deutlich an den aktuellen Geschehnissen zu erkennen ist, vollzieht sich in unserer heutigen Gesellschaft ein Wandel vom anthropozentrischen Weltbild zum moderat biozentrischen Weltbild, und somit nimmt das Tierwohl einen immer größer werdenden Stellenwert ein. Dies führt zu zunehmenden Einschränkungen und Verboten von Praktiken, die bei Tieren Schmerzen und Leiden verursachen. So sehen möglicherweise künftige Novellierungen des Tierschutzgesetzes die Abschaffung von Ausnahmen vom Amputationsverbot und somit den Verzicht auf nicht-kurative Eingriffe vor (BUNDESTIERÄRZTEKAMMER (BTK), 2017).

Ein Beispiel sind die aktuellen Diskussionen über Alternativen zur betäubungslosen Ferkelkastration, die sowohl Landwirte und Politiker als auch die Tierärzteschaft und viele Verbraucher sehr bewegen. Das bereits 2013 festgelegte Verbot der betäubungslosen Ferkelkastration ab 01.01.2019 in Deutschland bekam zwar im Herbst 2018 von den Regierungsfractionen eine Fristverlängerung von zwei Jahren, jedoch ist eine schnelle Lösung durch Etablierung geeigneter Alternativen unumgänglich (BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG UND LANDWIRTSCHAFT (BMEL), 2018). So ist beispielsweise die Kastration unter örtlicher Betäubung in Norwegen bereits seit 2002 und in Schweden seit 2016 vorgeschrieben. Auch in der Schweiz besteht seit 2010 das Verbot der betäubungslosen Ferkelkastration, weshalb hier flächendeckend eine Inhalationsnarkose mit Isofluran angewendet wird (KRENN, 2017).

Ein weiteres Beispiel ist die Enthornung von Rindern, die zwar in Deutschland nach §5 des Deutschen Tierschutzgesetzes bei unter sechs Wochen alten Rindern noch betäubungslos zugelassen ist, aber beispielsweise in der Schweiz nach Artikel 32 der Schweizer Tierschutzverordnung durch den Tierhalter/die Tierhalterin nur noch in den ersten drei Lebenswochen mit Sachkundenachweis und unter Schmerzausschaltung erlaubt ist. Weltweit gewinnt auch die Zucht auf Hornlosigkeit immer mehr an Bedeutung, um so den Eingriff des

Enthornens unnötig zu machen und dennoch dessen Vorteile zu nutzen. Die Vorteile der natürlichen Hornlosigkeit umfassen sowohl eine Erhöhung der Arbeitssicherheit für die Landwirte als auch verbessertes Tierwohl durch Wegfall von Schmerzen und Stress bei der Enthornung und weniger Stoßverletzungen unter den Tieren. Zudem führt der reduzierte Arbeitsaufwand zu Zeit- und Kostenersparnissen. Weitere wirtschaftliche Vorteile ergeben sich aus dem ruhigeren Verhalten der Tiere: der Energieverbrauch bleibt geringer, es entsteht wertvolleres Leder ohne Narben durch Stoßverletzungen und die Tierarztkosten werden reduziert (BAYERISCHE LANDESANSTALT FÜR LANDWIRTSCHAFT (LFL) - INSTITUT FÜR TIERZUCHT, 2019).

Auch das Schwanzkupieren bei jungen Lämmern ist eine weltweit gängige Methode bei langschwänzigen Schafrassen (SHELTON, 1977), deren Hauptgrund eine Reduktion der Verschmutzung des Schwanz- und Analbereichs und damit die Vermeidung eines Fliegenmadenbefalls ist (SCOBIE & O'CONNELL, 2002). Derzeit ist in Deutschland nach dem Tierschutzgesetz das Kupieren mit einem Gummiring bei unter 8 Tage alten Lämmern zwar noch erlaubt, aber diverse Studien haben bereits gezeigt, dass dieses Verfahren für die Lämmer schmerzhaft ist (SUTHERLAND & TUCKER, 2011). Auch der WISSENSCHAFTLICHE BEIRAT AGRARPOLITIK BEIM BMEL (2015) nannte „als Leitlinie für die Entwicklung einer zukunftsfähigen, in weiten Teilen der Bevölkerung akzeptierten Tierhaltung“ unter anderem ein Verzicht auf Amputationen.

Wie die oben genannten Beispiele veranschaulichen, ist es daher dringend notwendig, frühzeitig nicht-invasive Alternativen auf züchterischer Ebene sowohl für das Kupieren der Schwänze bei Lämmern als auch für ähnliche Praktiken in der modernen Tierproduktion zu entwickeln.

Ziel dieser Arbeit war es deshalb, die natürliche Schwanzlängenvariation beim Merinolandschaf (MLS) zu untersuchen und mögliche kausale Gene für den kurzen Schwanzphänotyp zu ermitteln. Besonderes Augenmerk sollte dabei auch auf Fruchtbarkeits- und Fitnessmerkmale gelegt werden, um ohne negative Seiteneffekte die Grundlage für eine züchterische Verkürzung des Schwanzes bei langschwänzigen Rassen zu schaffen und letztendlich das Kupieren unnötig zu machen. Das Eingangsmaterial für

das Kartierungsdesign, um die Gene bzw. Genvarianten hinter dem kurzen Schwanz aufzudecken, sollten dabei selektive Phäno- und Genotypisierungsdaten von MLS-Lämmern mit besonders kurzen und besonders langen Schwänzen bilden. Um die Schwanzlänge (SL) in der Varianzkomponentenanalyse der Kartierung verwenden und diese auf die individuelle Körpergröße korrigieren zu können, war es zuvor notwendig, geeignete Korrekturfaktoren und einen geeigneten Messzeitpunkt zu ermitteln.

Ein Teil der Ergebnisse dieser Arbeit wurde bei *Small Ruminant Research* eingereicht und am 08. April 2019 zur Veröffentlichung akzeptiert (Anh. 1).

2 Literaturübersicht

2.1 Die Rasse Merinolandschaf

Das MLS ist mit einem Anteil von etwa 30 % die in Deutschland am häufigsten vorkommende Schafrasse (ROESICKE & PLANER, 2016) und dominiert auch in Bayern mit einem Anteil von zwei Dritteln am Gesamtschafbestand. Früher wurde es auch Württemberger Schaf genannt und ging im 19. Jahrhundert aus einer Veredelungskreuzung von in Süd- und Mitteldeutschland einheimischen Landschaftsrassen, besonders des Niederrheinischen Marschschafes, mit eingeführten Merinos aus Spanien und Südfrankreich hervor (FELDMANN et al., 2005).

Es handelt sich um mittelgroße bis rahmige, weiße Schafe, die einen keilförmigen, langen Kopf mit typischem Wollschopf besitzen (VEREINIGUNG DEUTSCHER LANDESSCHAFZUCHTVERBÄNDE E. V. (VDL), 2005). Die Ohren dieser hornlosen Schafe sind lang, breit und leicht schräg nach vorne hängend. Ihr Rücken soll straff und breit sein, und sie sollen über eine gute Brust- und Flankentiefe verfügen (SAMBRAUS, 2011). An der Hinterhand sind ein langes, breites Becken und gutbefleischte Innen- und Außenkeulen gewünscht. Hautfalten sind bei Merinolandschafen unerwünscht, und ihre Wolle hat Merinocharakter mit 26–28 Mikron (VEREINIGUNG DEUTSCHER LANDESSCHAFZUCHTVERBÄNDE E. V. (VDL), 2005).

Böcke sind in der Regel 90 bis 100 cm groß und wiegen zwischen 120 und 140 kg, weibliche Tiere haben eine Größe von 75–85 cm und ein Gewicht von 80–90 kg (SAMBRAUS, 2011).

Besondere Eigenschaften sind Widerstands-, Pferch- und Marschfähigkeit, wodurch das Merinolandschaf bestens zur Landschaftspflege bei Hüte- und Koppelhaltung geeignet ist. Eine gute Fruchtbarkeits- und Aufzuchtleistung sowie eine asaisonale Brunst machen eine kontinuierliche Lämmerproduktion und, in Kombination mit einer hohen Wachstumsrate bei sehr guter Futterverwertung, eine wirtschaftliche Lammfleischproduktion möglich (VON KORN, 1992; FELDMANN et al., 2005).

2.2 Schwanzkupieren

2.2.1 Funktionen des Schwanzes

Der Schwanz nimmt bei verschiedenen Tierarten eine Vielzahl an unterschiedlichen Funktionen ein (KILEY-WORTHINGTON, 1976), wie beispielsweise Fortbewegung, Kommunikation, Nahrungsspeicherung, Verteidigung und Warnung (HICKMAN, 1979). Bei Schafen blieb der Schwanz während der Evolution vermutlich zur Abwehr von Insekten, zur Kommunikation mit Artgenossen und zur Unterstützung von Harn- und Kotabsatz erhalten (FISHER & GREGORY, 2007). Obwohl deutliche Schwanzbewegungen bei Schafen nicht vorkommen, da diese durch das starke Wachstum der Wolle beeinträchtigt sind, heben unsere domestizierten Schafe ihre Schwänze auch etwas mehr an, wenn sie erschrocken sind oder davonlaufen. Milchlämmer zeigen noch ausgeprägtes Schwanzwedeln, insbesondere bei der Zitzensuche oder bei langsamem Milchfluss (KILEY-WORTHINGTON, 1976).

2.2.2 Anatomie des Schwanzes

Schafe besitzen sieben Halswirbel, 13 Brustwirbel, sieben Lendenwirbel, in der Regel vier Kreuzwirbel, selten auch fünf oder drei, und rasseabhängig drei bis 24 Schwanzwirbel (ELLENBERGER & BAUM, 2013). Zur knöchernen Schwanzspitze hin nehmen die Schwanzwirbel kontinuierlich an Größe ab und verlieren auch zunehmend die charakteristischen Merkmale wie Wirbelkörper, -bögen und -fortsätze, wodurch der letzte Schwanzwirbel nur noch sanduhrförmig eingeschnürt ist (KÖNIG & LIEBICH, 2012).

Bei Merinolandschafen, die im Rahmen einer Studie zur Schwanzlänge untersucht wurden, umfasste die Schwanzwirbelsäule 19 bis 24 Wirbel mit zahlreichen Fehlbildungen, vor allem im distalen Drittel (VON SENDEN GENANNT HAVERCAMP et al., 2015). Als Fehlbildungen traten hier vor allem ein oder mehrere Blockwirbel auf, worunter man eine knöcherne Verschmelzung zweier oder mehrerer Wirbel versteht, wobei entweder nur die Wirbelkörper, die Bögen oder die gesamten Wirbel fusioniert sein

können (NODEN & DELAHUNTA, 1985). Diese Blockwirbel können sogenannte Knickschwänze verursachen (HERZOG, 2001).

2.2.3 Schwanztypen bei Schafen

MASON (1991a) teilte Schafrassen auf Grundlage ihres Schwanztyps in fünf Hauptgruppen ein, welche noch weiter nach ihren Vliestypen unterschieden wurden, wodurch insgesamt 13 Gruppen entstanden. Er beschrieb eine dünnschwänzige Gruppe mit Schwänzen bis zum Sprunggelenk oder länger, zu der er Rassen wie Merino, also auch das MLS als deutschen Vertreter, und Romney sowie deren Verwandte und Kreuzungen zählte. Eine weitere Gruppe sind langschwänzige Schafe mit fleischigen Schwänzen bis zu den Fesseln oder länger, zu denen Rassen aus dem Sudan und Eritrea gehörten. Zur Gruppe der kurzschwänzigen Schafe wurden Vertreter gezählt, die von den nordischen Kurzschwanzrassen wie beispielsweise Finnschaf oder Romanov abstammen. Außerdem schloss er Ostfriesische und Texel Schafe in diese Gruppe ein, obwohl sie sich von den nordischen kurzschwänzigen Schafen unterscheiden. Eine weitere Gruppe unter den domestizierten Schafen bildeten die Fettschwanzschafe mit ihren langen, hängenden fetten Schwänzen. Zu ihnen zählte MASON (1991a) beispielsweise die Rassen Awassi und Karakul. Als fünfte Gruppe definierte er Fettrumpfschafe mit einem sehr kurzen oder nicht vorhandenen Schwanz, beispielsweise vertreten durch Rassen in Afrika und Zentralasien.

Es existieren aber auch vereinfachte Einteilungen, wie die von FISHER et al. (2004) mit den drei Schwanzgruppen fett (z. B. Awassi), kurz (z. B. Finnschafe) und dünn (z. B. Romney).

Auch LYDEKKER (1912) verwendete die Schwanzlänge, um Schafe in mehrere Gruppen einzuteilen und erklärte eine längere Schwanzlänge als Hinweis auf einen höheren Grad der Domestikation.

2.2.4 Evolution des langen Schwanzes

Da Wildschafe und das Asiatische Mufflon als vermuteter Vorfahre kurze und dünne Schwänze besitzen (SHELTON, 1977; LYNCH et al., 1992) (Abb. 1), stellt sich die Frage, was die Ursache der langen Schwänze bei vielen unserer heutigen domestizierten Schafrassen ist (Abb. 2). Zur Diskussion stehen eine natürliche Selektion auf lange Schwänze aufgrund eines Anpassungsvorteils, eine beabsichtigte Selektion durch den Menschen zur Erzielung eines höheren Körpergewichts oder eines höheren Wollertrags, oder eine Folge der Selektion des Menschen auf andere Merkmale (SHELTON, 1977). Da es keinen offensichtlichen Anpassungsvorteil für lange Schwänze gibt und auf Basis seiner Untersuchungen zu Zusammenhängen zwischen Schwanzlänge und Merkmalen, auf die positiv selektiert wurde, priorisierte SHELTON (1977) die Theorie, dass eine Selektion auf andere Merkmale wie die Wollproduktion die Ursache der langen Schwänze in vielen heute domestizierten Rassen sei.



Abbildung 1: Europäisches Mufflon im Wildpark Poing



Abbildung 2: Merinolandschafe im Partnerbetrieb der Studie

2.2.5 Historische Entwicklung des Schwanzkupierens

Da die Entwicklung der langen Schwänze möglicherweise eng mit dem Wollertrag gekoppelt ist (SHELTON, 1977), soll im Folgenden auch die Entwicklung der Wollschafe näher betrachtet werden.

Die Domestikation der Schafe begann vermutlich um 9000 v. Chr. im Südwesten von Asien wodurch Schafe zusammen mit Ziegen zu den ersten

Nutztierenen gehörten, die domestiziert wurden (RYDER, 1983). Es wird angenommen, dass dabei zunächst auf Fleischansatz selektiert wurde und erst später auf sekundäre Produkte wie die Wolle (ROCHA et al., 2011). Außerdem wird angenommen, dass die Veränderung des Vlieses vom Haarschaf zum Wollschaf das Ergebnis menschlicher Selektion darstellt. Diese Entwicklung wird auf ca. 6000 v. Chr. datiert (CLUTTON-BROCK, 1999). Urkunden aus dem 3. Jahrtausend v. Chr. zeigten bereits den Rohstoff Wolle als eines der drei wichtigsten landwirtschaftlichen Produkte (CHIFFLARD & REINHARDT, 2016).

Columella beschrieb um 35 n. Chr. als Schönheitsideal bei Widdern in der römischen Landwirtschaft unter anderem einen wolligen Bauch und einen sehr langen, dicht behaarten Schwanz (CHIFFLARD & REINHARDT, 2016). Auch Abbildungen aus der Antike zeigen lange, baumelnde Schwänze, die über das Sprunggelenk reichen. Darstellungen aus dem Mittelalter zeigen ebenfalls meist Schafe mit langen Schwänzen, aber auch kurzschwänzige Schafe sind teilweise zu finden, wobei sich die Frage stellt, ob diese kupiert oder natürlicherweise kurzschwänzig waren (BINOIS, 2016).

Archäologische Hinweise darauf zu finden, wann das Kupieren von Schafschwänzen in der Geschichte erstmals auftrat, gestaltet sich sehr schwierig. Ein Problem ist der Mangel an speziell dafür eingesetzten Gegenständen, weil nur ein scharfes Messer benötigt wurde. Ein weiteres Problem ist die Unsicherheit, ob bei den toten Tieren, wenn sie in seltenen Fällen beispielsweise durch Verschüttung oder aufgrund eines Rituals im Ganzen vergraben wurden, der Schwanz belassen wurde, oder ob Aasfresser Veränderungen am Tierkörper vornahmen. Ein weiterer kritischer Faktor ist die Notwendigkeit guter Bedingungen im Boden für den Erhalt der zierlichen Schwanzwirbel (BINOIS, 2016).

Die erste verlässliche schriftliche Erwähnung des Kupierens wurde aus dem Jahr 1379 überliefert, mit einer Beschreibung des Verfahrens von Jehan de Brie in seiner Schrift „Le Bon Berger“ (RYDER, 1983). Ab dem 19. Jahrhundert wurde das Kupieren dann in allen französischen und britischen schriftlichen Aufzeichnungen als systematisches Routineverfahren dargestellt (BINOIS, 2016). In Sachsen, Baden-Württemberg und Bayern war die Einfuhr der spanischen Merinos der

Grund für das Kupieren der Schwänze ab ca. 1820 (CHIFFLARD & REINHARDT, 2016). FRIES (1851) rechtfertigte das Stutzen der Schwänze bei Mutterschafen damit, dass es eine Urinkontamination des Schwanzes und einen anschließenden Verderb der Wolle an Schwanz und Keulen sowie eine Verunreinigung des Euters während der Saugzeit der Lämmer vermeidet. Beim Kupieren von Hammeln kritisierte er die Beeinträchtigung des Wollertrages, wies jedoch auch darauf hin, dass das Stutzen nützlich sein kann, wenn die Schafe aufgrund von nassen, ungesunden Weiden Durchfall bekommen und der Schwanz dadurch so verschmutzt wird, dass sich Knäuel bilden.

2.2.6 Gründe für das Kupieren

2.2.6.1 Prävention von Erkrankungen und Hygiene

Als Hauptgrund für das Kupieren der Schwänze bei Schafen ist heutzutage die Vermeidung eines Fliegenmadenbefalls zu nennen (FRENCH et al., 1994; SCOBIE & O'CONNELL, 2002; SUTHERLAND & TUCKER, 2011; KERSLAKE et al., 2015; LLOYD et al., 2016). Durch das Kupieren des Schwanzes bleibt der Genitalbereich auch bei nassen Witterungsverhältnissen und bei dünnbreiigem Kot verhältnismäßig sauber (VON KORN, 2016). Andernfalls können Veränderungen in der Kotstruktur, wie Durchfall, der sowohl parasitär als auch futterbedingt sein kann, zu einer Anlagerung von Kotklumpen an der Wolle der Hinterhand führen (Abb. 3), was ein Risiko der Einnistung von Fliegenmaden (Myiasis) zur Folge hat (WAGHORN et al., 1999). Allerdings betonten SUTHERLAND und TUCKER (2011), dass die Zusammenhänge zwischen Kupieren, Kotklumpen und einem reduzierten Befall mit Fliegenmaden bisher noch unklar seien.

Weibliche Fliegen legen ihre Eier oder Erstlingslarven bevorzugt an verschmutzten Stellen auf der Hautoberfläche oder an Wundrändern und Körperöffnungen ab. Die daraus resultierenden Larven graben sich dann in das Gewebe des Schafes und ernähren sich davon (FARKAS et al., 1997). Bei der Verdauung des Wirtsgewebes werden Toxine freigesetzt, die bei

den betroffenen Schafen zu Fieber, erhöhter Atem- und Herzfrequenz, Inappetenz, Apathie, später auch zu Gewichtsverlust, Anämie, Toxämie und allgemeiner Erschöpfung führen. Werden betroffene Tiere zu spät behandelt, versterben sie oft (PFISTER, 2006).

Bei weiblichen Schafen spielt auch die Vermeidung einer Verschmutzung mit Urin (Abb. 4) bzw. Fruchtwasser und Lochien, die ein Verkleben und Verfärben der Wolle an Keule und Schwanz verursacht, eine wichtige Rolle (HANNEMANN et al., 2017), da sie zu puerperalen Infektionen und Intoxikationen wie Tetanus, Scheiden- und Gebärmutterausschlagbrand führen kann (BEHRENS et al., 2001).



Abbildung 3: Merinolandschaf-Lamm mit Kotverschmutzung im Schwanzbereich



Abbildung 4: Merinolandschaf-Lamm mit Urinverschmutzung im Schwanzbereich

Auch die Verletzungsgefahr bei langschwänzigen Tieren ist erhöht, da es beispielsweise in Paniksituationen leichter zu Trittverletzungen kommen kann (HANNEMANN et al., 2017).

2.2.6.2 Erleichtertes Management und kosmetische Gründe

Außerdem wird ein erleichtertes Management aufgrund der kupierten Schwänze als Grund angeführt. Sowohl Lämmer als auch Melker haben einen besseren Zugang zum Euter, und dem Schäfer ist eine leichtere optische Kontrolle von Euter und Genitale möglich. So können Trächtigkeit, Ankündigung der Lammung und krankhafte Veränderungen des Euters von hinten besser erkannt werden (GERMERSHAUSEN, 1789). Ein kurzer Schwanz erleichtert auch den Deckakt und reduziert das Risiko von Penisverletzungen (HANNEMANN et al., 2017).

Weiterhin ist das rein subjektive Schönheitsempfinden einzelner Züchter zu erwähnen, das als anthropozentrische und egoistische Einstellung von Seiten des Menschen zu werten ist. Da sehr kurzes Kupieren zu einer verbesserten Optik der Keulenausprägung führt, betonen sie bei Fleischschaffrasen und Merinoböcken auf diese Weise gerne die Bemuskelung der Keulen (CHIFFLARD & REINHARDT, 2016).

2.2.6.3 Schwanzbeißen durch Mutterschafe

Bei persönlichen Gesprächen mit MLS-Züchtern ergab sich außerdem die Problematik des Schwanzbeißens durch Mutterschafe. Beim Trockenlecken und Entfernen der Fruchthüllen kommt es auch leicht zum Anknabbern der Schwänze der jungen Lämmer. Weil es als Folge häufig zu Nekrosen und zu im Wirbelkanal aufsteigenden Entzündungen, die zu Lähmungen und Polyarthritiden führen können, kommt, ist bei betroffenen Lämmern ein sauberes Kupieren erforderlich. Intuitiv ist anzunehmen, dass ein vergleichbares Problem bei kurzschwänzigen Lämmer nicht oder seltener vorkommt, jedoch wurden keine Belege dafür gefunden.

2.2.7 Eingesetzte Methoden

Schäfermeister Schubert beschrieb im „Handbuch der Schafzucht und Schafhaltung, Dritter Band“ (DOEHNER, 1944) das Durchtrennen des Schwanzes zwischen drittem und viertem Schwanzwirbel mit einem

Messer als gängige Methode. Das Problem daran war jedoch, dass es zu starken Blutverlusten, oftmals mit Todesfolge, oder Entwicklungsstörungen der Lämmer kam. Er erwähnte jedoch bereits das unblutige Abquetschen des Schwanzes zwischen drittem und viertem Schwanzwirbel mittels einer Kupierzange als weitere Möglichkeit, kritisierte aber den längeren Heilungsprozess. Das Problem des Eindringens von Krankheitserregern und der daraus resultierenden schweren Verluste, beispielsweise durch Starrkrampf, bestand laut ihm jedoch bei beiden genannten Methoden.

Man unterscheidet auch heute noch zwischen blutigen und unblutigen Kupiermethoden, wobei das unblutige Kupieren mittels Kupierzange und elastischem Gummiring, seit 1970 in Deutschland die Methode der Wahl ist (CHIFFLARD & REINHARDT, 2016). Dabei wird nach dem Entfernen der Wolle und der Desinfektion der Haut ein elastischer Ring, der über eine Elastratorzange gespannt ist, zwischen zwei Schwanzwirbeln aufgesetzt (BEHRENS et al., 2001). Der Ring verursacht eine Ischämie, wodurch der untere Schwanzteil nekrotisch wird und nach ca. 10 Tagen abfällt (HANNEMANN et al., 2017). Es ist ratsam, den Ring zwischen dem dritten und vierten Schwanzwirbel anzusetzen, damit bei weiblichen Tieren die Scheide und bei männlichen Tieren der Afterbereich einigermaßen bedeckt und damit gegen äußere Einflüsse geschützt bleiben (CHIFFLARD & REINHARDT, 2016).

Bei der blutigen Amputation kommen verschiedene Methoden zum Einsatz. Bei chirurgischer Amputation durch den Tierarzt wird nach dem Entfernen der Wolle und der Desinfektion der Haut ein zirkulärer Hautschnitt angebracht, der nach dem Absetzen des Schwanzendes mit Einzelheften über dem Schwanzstumpf wieder vernäht wird. Alternativ kann der Schwanz entweder mit einem kleinen Emaskulator wie einer Burdizzozange oder einem Thermokauter abgetrennt werden, um eine Verblutungsgefahr, wie sie beim Abschneiden mit einem Messer oder einer Schere besteht, zu vermeiden (BEHRENS et al., 2001). Das Kautereisen, das vor allem in Australien und Neuseeland eingesetzt wird, wird durch einen integrierten, gasbetriebenen Brenner erhitzt und ermöglicht so ein scharfes Abtrennen des Schwanzes bei gleichzeitiger

Verödung von Blutgefäßen und Nervenenden (HANNEMANN et al., 2017).

2.2.8 Problematik des Schwanzkupierens

2.2.8.1 Allgemeine Nachteile

Trotz der in Kapitel 2.2.6 genannten Vorteile bringt das Kupieren der Schwänze jedoch auch eine Reihe von Nachteilen mit sich. Einerseits sind die durch den Kupiervorgang entstehenden Schmerzen (MELLOR & MURRAY, 1989; LESTER et al., 1996; GRAHAM et al., 1997; KENT et al., 1998; POLLARD et al., 2001; GRANT, 2004) zu erwähnen. Andererseits kann es aufgrund der resultierenden Wunde zu einer erhöhten Anfälligkeit für Erkrankungen und zu einer vorübergehenden Beeinträchtigung des Wachstums kommen (BRANFORD OLTENACU & BOYLAN, 1974). Von JAMES et al. (1990) wurde außerdem auf eine Arbeitseinsparung durch den Verzicht auf das Kupieren hingewiesen.

2.2.8.2 Probleme bei zu kurzem Kupieren

Des Weiteren birgt insbesondere ein zu starkes Kürzen der Schwänze die Gefahr eines Rektumprolapses, da die Ansatzstellen der Analmuskulatur bis zu den ersten Schwanzwirbeln reichen (CHIFFLARD & REINHARDT, 2016). Bei weiblichen Tieren kommt zusätzlich noch die Gefahr eines Uterusprolapses (KERSLAKE et al., 2015) sowie ein erhöhtes Krebsrisiko im Schwanzbereich, vor allem für Erkrankungen an Vulvakarzinomen, hinzu (VANDEGRAAFF, 1976; SWAN et al., 1984). LLOYD et al. (2016) beschrieben bei sehr kurz kupierten Schwänzen im Vergleich zu einer längeren Variante auch noch ein höheres Risiko für aufsteigende Infektionen und bakterielle Arthritiden. Da eine frühere Studie zudem eine längere Heilungsdauer der Kupierwunde bei kurzen Schwänzen zeigte (JOHNSTONE, 1944), empfahlen LLOYD et al. (2016) einen Stumpf zu belassen, der aus mindestens drei Schwanzwirbeln besteht.

2.2.9 Rechtliche Lage und Tierschutzproblematik

2.2.9.1 Rechtliche Lage in Europa

In der Europaratsempfehlung für das Halten von Schafen des ständigen Ausschusses des europäischen Übereinkommens zum Schutz von Tieren in landwirtschaftlichen Tierhaltungen werden in Artikel 30, Absatz 1 zunächst „Eingriffe, die den Verlust einer bedeutenden Gewebemenge oder eine Veränderung der Knochen bewirken oder erhebliche Schmerzen oder übermäßigen Stress verursachen“ verboten. Im Absatz 2 werden jedoch Ausnahmen hinzugefügt, die unter anderem „das Kupieren des Schwanzes mit chirurgischen Methoden oder einer Burdizzo-Zange, solange so viel des Schwanzes bewahrt wird, dass bei Schafböcken der Anus und bei weiblichen Schafen Anus und Vulva bedeckt sind“ und „falls nach den nationalen gesetzlichen Bestimmungen gestattet [...] das Kupieren des Schwanzes mit Hilfe von Gummiringen“ erlauben. Es wird jedoch in Absatz 3 auch darauf hingewiesen, dass das Kupieren, insbesondere mit einem Gummiring, vermieden werden sollte und stattdessen, wenn der Eingriff unerlässlich ist, nur mit chirurgischen Methoden unter Betäubung oder mit einer Burdizzo-Zange durchgeführt werden sollte.

Nach der EU-Öko-Verordnung 889/2008, Artikel 18 dürfen „Eingriffe wie das Anbringen von Gummiringen an den Schwänzen von Schafen, das Kupieren von Schwänzen, [...] in der ökologischen/biologischen Tierhaltung nicht routinemäßig durchgeführt werden. Aus Sicherheitsgründen oder wenn sie der Verbesserung der Gesundheit, des Befindens oder der Hygienebedingungen der Tiere dienen, können einige dieser Eingriffe von der zuständigen Behörde jedoch fallweise genehmigt werden“. Allerdings ist „[j]egliches Leid der Tiere [...] auf ein Minimum zu begrenzen, indem angemessene Betäubungs- und/oder Schmerzmittel verabreicht werden und der Eingriff nur im geeigneten Alter und von qualifiziertem Personal vorgenommen wird“.

In einigen Ländern wie beispielsweise Schweden, Estland, Norwegen und Finnland gibt es keine generelle Erlaubnis für das Schwanzkupieren. In Estland und Finnland bildet die einzige Ausnahme eine tierärztliche

Indikation, in Norwegen und Schweden sind außer der tierärztlichen Indikation noch weitere Ausnahmen möglich, in letzterem Land jedoch nur über die Regierung (HANNEMANN et al., 2017). In den Niederlanden herrscht seit 01.01.2008 ein Kupierverbot mit Ausnahme von drei englischen, langschwänzigen Schafrassen (Suffolk, Clun Forest und Hampshire Down), für die die Entwicklung eines Zuchtprogramms für kürzeren Schwänze verpflichtend vorgeschrieben ist (BOHTE-WILHELMUS et al., 2010).

2.2.9.2 Rechtliche Lage in Deutschland

Auf nationaler Ebene herrscht in Deutschland eine ähnliche Gesetzeslage wie in der Europaratsempfehlung beschrieben. Obwohl nach § 6, Absatz 1 des Deutschen Tierschutzgesetzes zunächst ein Verbot für „das vollständige oder teilweise Amputieren von Körperteilen oder das vollständige oder teilweise Entnehmen oder Zerstören von Organen oder Geweben eines Wirbeltieres“ vorliegt, wird im darauffolgenden Abschnitt unter anderem die Ausnahme generiert, dass das Verbot nicht gilt, wenn „der Eingriff im Einzelfall für die vorgesehene Nutzung des Tieres zu dessen Schutz oder zum Schutz anderer Tiere unerlässlich ist“. Auch schreibt das Deutsche Tierschutzgesetz in § 5, Absatz 1 zunächst eine Betäubung für mit Schmerzen verbundene Eingriffe bei Wirbeltieren vor, jedoch gibt es aktuell in Absatz 3 noch Ausnahmen, die unter anderem das betäubungslose „Kürzen des Schwanzes von unter acht Tage alten Lämmern mittels elastischer Ringe“ erlauben.

In der Empfehlung für die Haltung von Schafen und Ziegen der DVG-Fachgruppe für Krankheiten der kleinen Wiederkäuer wird eine Reinigung und Desinfektion des Schwanzbereiches empfohlen und ein Anbringen des Gummiringes zwischen zwei Wirbeln gefordert. Außerdem werden bestimmte Längen für den verbliebenen Schwanzanteil vorgeschrieben, „bei weiblichen Tieren [soll] zumindest die Scham bedeckt“ sein und „[b]ei Böcken [...] zumindest der Anus“. Als weitere Maßnahme zur Vermeidung eines Fliegenmadenbefalls wird eine zusätzliche Schwanzschur während der Weidesaison genannt (GANTER et al., 2012).

Beim blutigen Kupieren von über acht Tage alten Lämmern wird nach deutschem Tierschutzgesetz eine Betäubung gefordert. Diese erfolgt durch eine Intercoccygealanästhesie zwischen dem ersten und zweiten Schwanzwirbel in einer solchen Dosierung, dass die Tiere noch stehen können (BEHRENS et al., 2001). In Deutschland ist aktuell nur Procain als Lokalanästhetikum für Schafe zugelassen und die örtliche Betäubung muss von einem Tierarzt verabreicht werden. Zur Schmerzlinderung ist aktuell kein nicht-steroidales Antiphlogistikum in Deutschland für Schafe zugelassen (HANNEMANN et al., 2017).

Möglicherweise sehen künftige Novellierungen des deutschen Tierschutzgesetzes die Abschaffung von Ausnahmen vom Amputationsverbot und somit den Verzicht auf nicht-kurative Eingriffe vor (BUNDESTIERÄRZTEKAMMER (BTK), 2017). Um nicht in eine ähnliche Situation zu geraten wie bei der betäubungslosen Ferkelkastration, deren Verbot aufgrund mangelnder Akzeptanz und Praktikabilität von Alternativen in letzter Minute verschoben wurde (BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG UND LANDWIRTSCHAFT (BMEL), 2018) und zu einem großen öffentlichen Aufschrei führte, sollte schon jetzt für die Zukunft nach einer dauerhaften Lösung für das Schwanzkupieren bei Lämmern gesucht werden, die auch im Sinne des Tierwohles steht. Diverse Studien zeigten bereits, dass das Kupieren eine Belastung für die Lämmer darstellt. Dies wurde sowohl anhand von erhöhten Cortisolwerten (LESTER et al., 1996; GRAHAM et al., 1997; KENT et al., 1998), als auch an Veränderungen am Verhalten (GRAHAM et al., 1997; KENT et al., 1998; POLLARD et al., 2001; GRANT, 2004) beobachtet.

Ein Verbot des Schwanzkupierens bei Ferkeln steht bereits im Raum (DETER, 2018) und es ist mit hoher Wahrscheinlichkeit nur eine Frage der Zeit, bis entsprechende Verbote auch beim Schaf folgen.

2.3 Zucht auf kurze Schwänze

2.3.1 Natürliche Schwanzlängenvariation

Bereits 1956 entdeckte Don Gare von „Mt Glen View“ in Jamestown in

Südaustralien, dass wiederholt kurzschwänzige Lämmer in einer seiner Merinoherden auftraten, bei denen ein Kupieren nicht erforderlich war (JAMES et al., 1990).

Die *Abbildungen 5* und *6*, die beide reinrassige MLS-Lämmer zeigen, veranschaulichen ebenfalls deutlich das Vorhandensein einer natürlichen Schwanzlängenvariation in der MLS-Herde, in der die Messungen und Probennahmen für diese Arbeit durchgeführt wurden.



Abbildung 5: Merinolandschaf-Lamm mit extrem kurzem Schwanz



Abbildung 6: Merinolandschaf-Lamm mit extrem langem Schwanz

In den *Abbildungen 2* und *7* kann man auch die bestehende Schwanzlängenvariation bei den Müttern dieser MLS-Lämmer deutlich erkennen.



Abbildung 7: Merinolandschaf-Mütter mit deutlicher Schwanzlängenvariation

Aber auch in anderen langschwänzigen Rassen wurden natürlich vorkommende kurzschwänzige Individuen beschrieben, wie beispielsweise von CARTER (1976) für Romneys und von BOHTE-WILHELMUS et al. (2010) für Hampshire Down und Clun Forest.

2.3.2 Genetik der Schwanzlänge

2.3.2.1 Heritabilität der Schwanzlänge

GREEFF et al. (2015) zeigten eine Erblichkeit von $0,58 (\pm 0,05)$ für die Schwanzlänge bei Merinos, und ein noch höherer Wert von $0,77 (\pm 0,42)$ wurde für Böcke der Finnischen Landrasse ermittelt (BRANFORD OLTENACU & BOYLAN, 1974). Auch bei weiteren Schafrassen wurden in vorangegangenen Studien Heritabilitäten für die Schwanzlänge berechnet (Tab. 1).

Aufgrund der mittleren bis hohen Heritabilität der Schwanzlänge bei vielen Rassen erscheint eine Zucht auf kurze Schwänze sehr vielversprechend (JAMES, 2006). BOHTE-WILHELMUS et al. (2010) betonten, dass die Geschwindigkeit der Schwanzlängenverkürzung durch genetische Selektion von der Selektionsintensität, der Anzahl der gemessenen Tiere und der gewählten Populationsgröße abhängt. Für die Rasse Suffolk

berichteten beispielsweise DE HAAS und VEERKAMP (2004) von einer maximalen genetischen Verkürzung um 0,62 cm pro Jahr, was eine Schwanzlängenverkürzung um 50 % innerhalb von geschätzten 15 Jahren ermöglicht (BOHTE-WILHELMUS et al., 2010).

Tabelle 1: Heritabilitäten für die Schwanzlänge (SL) bei verschiedenen Schafrassen

Rasse	Heritabilität	Autor
Hampshire Down	0,20 (\pm 0,10)	BOHTE-WILHELMUS et al. (2010)
Clun Forest	0,27 (\pm 0,35)	BOHTE-WILHELMUS et al. (2010)
Rambouillet	0,34 - 0,39	SHELTON (1977)
Suffolk	0,41	DE HAAS und VEERKAMP (2004)
Kreuzungen mit Standardrassen (Minnesota 100, Suffolk, Targhee)	0,50 (\pm 0,24)	BRANFORD OLTENACU und BOYLAN (1974)
Australische Merinos	0,58 (\pm 0,05)	GREEFF et al. (2015)
Rambouillet \times Mufflon	0,71	SHELTON (1977)
Kreuzungen Neuseeland	0,73 (\pm 0,05)	SCOBIE et al. (2007)
	SL korrigiert auf die Länge von Anus bis Sprunggelenk:	
	0,80 (\pm 0,05)	
Finnschafe	0,77 (\pm 0,42)	BRANFORD OLTENACU und BOYLAN (1974)
Finnschafe \times Cheviot	0,82 (\pm 0,10)	SCOBIE und O'CONNELL (2002)

2.3.2.2 Vererbung der Schwanzlänge

Aus verschiedenen Kreuzungsstudien mit Böcken der kurzschwänzigen Finnschafe und Schafen langschwänziger Standardrassen (Minnesota 100, Suffolk und Targhee) leiteten BRANFORD OLTENACU und BOYLAN (1974) ab, dass die Schwanzlänge ein multigenetisches Merkmal mit einer gewissen Dominanz der kurzschwänzigen Gene ist, aber nicht nur additive Genaktivität vorliegt, sondern eine multiplikative Wirkung der beeinflussenden Gene. Sie folgerten dies aus den Beobachtung, dass die durchschnittliche Schwanzlänge der F1-Generation signifikant kürzer

($P < 0,01$) war als die mittlere Schwanzlänge der Elterntiere und dass die durchschnittliche Schwanzlänge der F2-Generation signifikant kürzer ($P < 0,01$) war als das erwartete arithmetische Mittel der Elternteile, aber nicht anders ($P > 0,05$) als deren erwartetes geometrische Mittel.

CARTER (1976) berichtete für Romneys, dass die Schwanzlänge von einem dominanten Gen mit unvollständiger Penetranz vererbt wird.

Für Merinos fanden JAMES et al. (1990) heraus, dass die Art der Vererbung zu variieren scheint. Sie mutmaßten für Merinos eine andere Art der Vererbung als BRANFORD OLTENACU und BOYLAN (1974) für Finnschafe und SHELTON (1977) für Mufflons beschrieben. JAMES et al. (1990) vermuteten für Merinos eine Vererbung durch eine kleine Anzahl von Genen mit großer Wirkung.

In einer weiteren Studie kamen JAMES et al. (1991) zu dem Schluss, dass die Schwanzlänge von einer kleinen Anzahl interagierender Gene mit möglicher richtungsbezogener Dominanz für die Gene des kurzen Schwanzes vererbt wird.

JAMES (2006) fasste zusammen, dass die Schwanzlänge auf zwei verschiedene Arten vererbt wird, einmal als multigenetisches oder quantitatives Merkmal bei der Vererbung normaler Phänotypen sowohl bei kurz- als auch bei langschwänzigen Rassen und einmal durch ein oder wenige Gene mit großer Wirkung, insbesondere bei extrem kurzschwänzigen Phänotypen, die gelegentlich auch in langschwänzigen Rassen vorkommen.

2.3.3 Problematik der Kurzschwanzigkeit

Wie bereits erwähnt, beschrieb CARTER (1976) für die Rasse Romney eine Vererbung der Kurzschwanzigkeit durch ein dominantes Gen mit unvollständiger Penetranz und vermutete eine verringerte Lebensfähigkeit von Embryonen, bei denen ein homozygoter Zustand der vermeintlichen Allele vorliegt. Dass ein ähnliches Gen für die Kurzschwanzigkeit bei australischen Merinos verantwortlich ist, schlossen JAMES et al. (1991) aufgrund der hohen Fruchtbarkeit bei der Rückkreuzung von weiblichen F₁-Tieren mit kurzschwänzigen Böcken mit einer hohen Wahrscheinlichkeit aus. Allerdings mussten sie bei den Nachkommen aus

dieser Anpaarung ein erhöhtes Auftreten von Anomalien an der Hinterhand beobachten. Am häufigsten vertreten war dabei die Analatresie.

Auch frühere Studien zeigten schon ein erhöhtes Auftreten von schweren körperlichen Missbildung in Zusammenhang mit kurzen oder fehlenden Schwänzen, wie beispielsweise häufige muskuloskeletale Defekte (DENNIS, 1972). JORDAN (1952) berichtete in der No Tail Rasse von Lämmern, die an der Hinterhand vollständig oder teilweise gelähmt geboren wurden.

Ein Zusammenhang zwischen kurzen Schwänzen und Letalität wurde auch bei anderen Tierarten festgestellt. Beispielsweise ist die Schwanzlosigkeit eine letale Anomalie bei Mäusen und Hunden (HÁMORI, 1983). Außerdem wurden Fehlbildungen und eine erhöhte Letalität im Zusammenhang mit der Schwanzlosigkeit bei Manx-Katzen beobachtet (DEFOREST & BASRUR, 1979).

Es sollte jedoch auch bedacht werden, dass viele nordischen Kurzschwanzrassen wie Finnschafe und Romanovs natürlich kurze Schwänze besitzen, diese aber mit keinen körperlichen Missbildungen einhergehen und diese Rassen sogar zu den fruchtbarsten Schafrassen der Welt gehören (MASON, 1991b). Darüber hinaus besitzen Mufflons, die Vorfahren unserer heute domestizierten Schafe, auch natürlich kurze Schwänze ohne ein erhöhtes Auftreten von Missbildungen oder eine erhöhte Letalität (SHELTON, 1977; JAMES et al., 1991). Deshalb handelt es sich bei der Zucht auf kürzere Schwänze sozusagen um eine Zucht „zurück zum Ursprung“, die den Zustand vor der menschlichen Selektion auf höhere Länge wiederherstellt.

2.3.4 Introgression aus kurzschwänzigen Rassen

Eine Möglichkeit der genetischen Verkürzung der Schwanzlänge bei langschwänzigen Rassen ist die Introgression von Genen aus kurzschwänzigen Rassen. BRANFORD OLTENACU und BOYLAN (1974) führten diverse Kreuzungen zwischen kurzschwänzigen nordischen Finnschafböcken und Muttertieren von Minnesota 100, Suffolk und Targhee durch. Sie kamen dabei zu dem Schluss, dass bei den Kreuzungen

genügend Variation für eine Selektion auf kürzere Schwänze vorhanden war, um diese bei der Entwicklung neuer Rassen basierend auf ursprünglichen Kreuzungen mit Finnschafen zu verwenden. Dabei versprachen sie sich neben dem Vorteil eines kürzeren Schwanzes auch eine erhöhte Fruchtbarkeit durch die Einkreuzung von Finnschafen.

Auch SCOBIE und O'CONNELL (2002) nutzten kurzschwänzige Finnschafe und kreuzten diese mit langschwänzigen Cheviot Schafen. Dabei beobachteten auch sie, dass ein erhöhter Anteil an Finnschafgenen zu einer proportionalen Reduzierung der Schwanzlänge führte.

Dieselbe Methode könnte auch auf unsere langschwänzigen Merinolandschafe angewendet werden, indem nordische Kurzschwanzrassen wie beispielsweise Finnschafe, die einen natürlich kurzen Schwanz ohne negative Nebeneffekte besitzen, eingekreuzt werden. Befragt man jedoch Züchter, stellt die Einkreuzung von einer Fremdrasse ein großes Problem dar, da sie die Gefahr eines Verlusts von gewünschten rassetypischen Eigenschaften und einer Abnahme wichtiger Produktionseigenschaften, auf die zuvor selektiert wurde, birgt.

2.3.5 Selektion innerhalb einzelner Rassen

Alternativ ist eine genetische Verkürzung der Schwanzlänge innerhalb einzelner Rassen unter Ausnutzung der natürlichen Schwanzlängenvariation und Selektion der Zuchttiere mit den kürzesten Schwänzen möglich. Dieser Ansatz wurde bereits von Züchtern in Australien und Neuseeland verfolgt, jedoch zeigten sich die bereits in Kapitel 2.3.3 beschriebenen Probleme.

2.3.6 Direkter oder indirekter Gentest

Nach dem aktuellen Kenntnisstand existiert bislang kein Gentest für eine Gen-assistierte Selektion auf einen kurzen Schwanz bei Schafen. Dieser würde Schafzüchtern helfen, geeignete Böcke und Mutterschafe auszuwählen, um Anpaarungen vorzunehmen, deren Ziel die Zucht auf einen kürzeren Schwanz ist. Denkbar wären allerdings zwei Arten der

Gendiagnostik, zum einen ein direkter und zum anderen ein indirekter Gentest.

Der direkte Gentest wird eingesetzt, wenn die merkmalsverursachenden (kausativen) DNA-Varianten bekannt sind, die ursächliche Mutation also direkt nachgewiesen werden kann. Ist der relevante Genlocus, also das Merkmals- oder Kandidatengen, nicht bekannt, müssen gekoppelte Markerloci in der betreffenden Chromosomenregion für die Beurteilung des Status am Kandidatenlocus zur Hilfe genommen werden, wodurch also die ursächliche Mutation indirekt nachgewiesen wird (GELDERMANN, 2005). Sowohl für den direkten als auch für den indirekten Gentest ist eine Kartierung bzw. ein anschließendes Auffinden der kausalen Mutation(en) Voraussetzung.

2.4 Kartierung von Genen

2.4.1 Einteilung von Merkmalen

Man unterscheidet zwischen zwei Arten von Merkmalen, den qualitativen und den quantitativen.

Qualitative Merkmale lassen sich in Kategorien einteilen, zwischen denen es keine fließenden Übergänge gibt, weshalb sie auch diskrete oder kategorische Merkmale genannt werden (WILLAM & SIMIANER, 2017). Sie zeigen somit im Gegensatz zu quantitativen Merkmalen eine diskontinuierliche Variation (MERRELL, 1994). Beispiele für qualitative Merkmale sind die Fellfarbe und das Vorhandensein oder Fehlen von Hörnern. Bei diesen Merkmalen ist der Umwelteinfluss sehr gering (WORKU, 2015) und bei ihrer Ausprägung sind meist die Allele nur eines oder weniger Genorte beteiligt (WILLAM & SIMIANER, 2017).

Quantitative Merkmale wie beispielsweise Körpergewicht, Körperlänge und Schwanzlänge, aber auch wirtschaftliche Merkmale wie die Milchleistung, zeigen eine kontinuierliche Variation im Phänotyp (ANDERSSON, 2001). Im Gegensatz zu den qualitativen Merkmalen sind an der Ausprägung dieser Merkmale meist Allele vieler Genorte beteiligt (WILLAM & SIMIANER, 2017) und sie unterliegen einem Umwelteinfluss

(ANDERSSON, 2001).

Eine Region im Genom, die ein oder mehrere Gene beinhaltet, deren Varianten auf die Ausprägung eines quantitativen Merkmals Einfluss nehmen, wird als *Quantitative Trait Locus (QTL)* bezeichnet (GELDERMANN, 1975). Um auf Kandidatengene schließen zu können, die zur Ausprägung der beobachteten Merkmale führen, wendet man Kartierungsstudien an (GELDERMANN, 2005).

2.4.2 Arten von genetischen Markern

Polymorphe Stellen oder Stücke einer DNA-Sequenz mit bekannter Position auf einem Chromosom können als genetische Marker dienen (FROMMLET et al., 2016). Diese werden als Bezugspunkte für Kartierungen verwendet, da sie direkt bzw. einzeln identifizierbar sind (GELDERMANN, 2005).

Allele sind DNA-Varianten für einen Locus zwischen homologen Chromosomen, die durch Nukleotidsubstitutionen, -insertionen oder -deletionen entstanden sein können (GELDERMANN, 2005). „Die Gesamtheit aller Allele [...] bestimmt den Umfang des molekularen Polymorphismus – die molekulare Vielgestaltigkeit eines Individuums“ (GROTH, 2004).

Bei Markern bezeichnet man die verschiedenen Ausprägungen als Markerallele. Liegen genau zwei Ausprägungen für einen Marker vor, ist dieser Marker biallelisch (BICKEBÖLLER & FISCHER, 2007).

Es wurden hauptsächlich drei Arten von Markern verwendet, die in hoher Dichte über das gesamte Genom verteilt vorkommen: Restriktionsfragment-Längenpolymorphismen (*restriction fragment length polymorphisms, RFLPs*), Mikrosatelliten (*simple sequence length polymorphisms, SSLPs*) und Einzelbasenpolymorphismen (*single nucleotide polymorphisms, SNPs*) (GRAW, 2006).

2.4.2.1 Restriktionsfragment-Längenpolymorphismen

Restriktionsfragment-Längenpolymorphismen waren die ersten auf DNA-Ebene nachgewiesenen Polymorphismen (WELLER, 2001) und wurden vor allem in der Vergangenheit häufig eingesetzt. Man machte sich damit zunutze, dass aus Bakterien gewonnene Restriktionsenzyme bestimmte DNA-Sequenzen erkennen und an dieser Stelle als molekulare Schere schneiden. Wurde die Erkennungssequenz durch einen Basenaustausch verändert, schneidet das Enzym nicht, was zu Fragmenten unterschiedlicher Länge führt (BICKEBÖLLER & FISCHER, 2007). Die Restriktionsfragmente können anschließend durch Elektrophorese in Agarosegelen dargestellt werden, wobei die Fragmente entsprechend ihrer Molekulargröße getrennt werden und die genotypischen Veränderungen somit anhand der veränderten Mobilität der Restriktionsfragmente identifiziert werden können (BOTSTEIN et al., 1980). Obwohl viele Kartierungsstudien auf der Grundlage von RFLPs in Pflanzen erfolgreich waren, bestand das Problem bei tierischen Lebewesen darin, dass die diallelischen RFLP-Marker in den meisten Individuen homozygot waren, und daher für die Kartierung nicht informativ waren (WELLER, 2001).

2.4.2.2 Mikrosatelliten

Das Kerngenom besteht größtenteils aus nicht-kodierenden Bereichen und darin liegen wiederum viele einfache, repetitive Sequenzen (BICKEBÖLLER & FISCHER, 2007). Da vor allem die kürzeren, sich wiederholenden Sequenzmotive tandemartig angeordnet sind, spricht man von Tandem-Wiederholungen (*tandem repeats*) und unterteilt diese in Mini- und Mikrosatelliten.

Minisatelliten-DNA besteht aus Motiven von 10 bis ca. 100 bp Länge, die 2- bis > 100-mal pro Position (*Locus*) wiederholt werden (GELDERMANN, 2005). Sie wird auch als *variable number of tandem repeats* bezeichnet (STORCH et al., 2013).

Von Mikrosatelliten-DNA spricht man, wenn es sich bei den

wiederholenden Sequenzstücken um sehr kurze Motive von weniger als 10 bp, meist zwischen 1 und 4 bp Länge handelt, das 5- bis 15-mal pro Locus wiederholt wird. Man nennt sie auch *simple tandem repeats*, *simple sequence length polymorphisms*, *short sequence repeats* (GELDERMANN, 2005) oder *short tandem repeats* (STORCH et al., 2013).

Die Vorteile der Verwendung von Mikrosatelliten als Marker liegen in ihrer definierten Kodominanz, was bedeutet, dass der heterozygote Genotyp von beiden Homozygoten unterschieden werden kann, und in der Eigenschaft, dass sie fast immer polyallelisch sind und daher die meisten Individuen für sie heterozygot sind (WELLER, 2001). Darüber hinaus besitzen sie einen ausgeprägten Polymorphismus, sind in großer Zahl vorhanden und gleichmäßig über das gesamte Genom verteilt (SCHLÖTTERER, 2004).

Für die Genotypisierung an einem Mikrosatellitenlocus wird das Chromosomenstückchen mit den Repeats auf beiden Chromosomen mit Hilfe einer Polymerase-Kettenreaktion (*polymerase chain reaction, PCR*) vervielfältigt (BICKEBÖLLER & FISCHER, 2007). Die PCR-Produkte werden anschließend in eine Gelelektrophorese überführt, wo die unterschiedlich langen Mikrosatelliten ihrer Größe nach aufgetrennt werden, und somit ein Bandenmuster entsteht, welches den Genotypen wiedergibt (TAUTZ, 1989; WEBER & MAY, 1989).

Ein Nachteil des Einsatzes von Mikrosatelliten sind technische Probleme wie PCR-Artefakte (*stutter bands*), die eine automatisierte Auswertung von Mikrosatellitenallelen erschweren (SCHLÖTTERER, 2004). Außerdem gibt es Probleme mit der Wiederholbarkeit (VIGNAL et al., 2002). Zudem führt ihre relativ hohe Mutationsrate (beim Menschen liegt diese zwischen 0 und 8×10^{-3} pro Locus pro Gamet pro Generation) zu weiteren Problemen in den Kartierungsdesigns (WEBER & WONG, 1993).

2.4.2.3 Einzelbasenpolymorphismen

Die Vorteile der Verwendung von Einzelbasenpolymorphismen (*single nucleotide polymorphisms, SNPs*) als Marker gegenüber Mikrosatelliten liegen in ihrem häufigeren Auftreten im Genom und ihrer stabileren

Vererbung (LANDEGREN et al., 1998). SNPs (sprich: Snips) haben in den letzten Jahren, auch durch die Entwicklung sogenannter SNP-Microarrays, eine große Bedeutung erlangt. Mit dieser Technologie wurde eine schnelle und relativ kostengünstige Genotypisierung von mehreren hunderttausend SNPs gleichzeitig möglich (FROMMLET et al., 2016).

Bei SNPs handelt es sich um Polymorphismen, die durch historisch einmalige Punktmutationen mit bekannter Position auf einem Chromosom in einer Population bzw. Spezies entstanden sind. Man macht sich in der Populationsgenetik und Phylogeographie bei der Analyse von diesen zunutze, dass sich auch nah verwandte Individuen durch einzelne Basenmutationen unterscheiden (STORCH et al., 2013). Sie sind die häufigsten Sequenzvariationen im Erbgut mit einer Häufigkeit von mehr als einem ausgetauschten Nukleotidbaustein pro 1000 Basenpaare beim Menschen (BUDDECKE, 2002) und in der Regel biallelisch. Beim Vergleich der DNA-Sequenzen von Individuen mit einer Referenzsequenz erscheint somit etwa alle 1000 Basenpaare ein alternatives Allel anstelle des Referenzallels (VIGNAL et al., 2002).

Da SNPs omnipräsent im Genom sind, ihre Genotypisierung präzise und leicht automatisierbar ist und ihre Mutationsrate niedrig ist, gewannen diese immer mehr an Bedeutung, wobei *RFLPs* und *SSLPs* in der letzten Dekade stark an Bedeutung verloren haben (VIGNAL et al., 2002).

2.4.3 Genkarten

Unter Kartierung versteht man die Bestimmung von Locus, Reihenfolge und Abstand von Markern und Genen auf Chromosomen (BICKEBÖLLER & FISCHER, 2007). Man unterscheidet zwischen der genetischen Kartierung und der physikalischen Kartierung (GELDERMANN, 2005).

Bei der Erstellung von genetischen Karten erfolgt die Abstandsmessung zwischen den Markern auf einem Chromosom durch Rekombinationsraten, d. h. anhand der relativen Häufigkeiten von Crossing-over-Ereignissen pro Meiose zwischen den jeweiligen Markern. Anschließend wird die prozentuale Häufigkeit in Centimorgan (cM)

umgerechnet (GELDERMANN, 2005). Diese Einheit wurde nach Thomas Morgan benannt, dem Entdecker des Phänomens der Kopplung. 1 cM entspricht einer Rekombinationshäufigkeit von 1 % (NICHOLAS, 2003). Eine Rekombination ist umso wahrscheinlicher, je weiter voneinander entfernt die betrachteten Gene oder Marker liegen, wodurch hohe Rekombinationshäufigkeiten auf einen weiten Abstand und niedrige Rekombinationshäufigkeiten auf einen geringen Abstand zwischen zwei Genen oder Markern hindeuten, weshalb man bei letzteren auch von „gekoppelt“ spricht (GRAW, 2006).

Bei physikalischen Genkarten, auch cytogenetische Karten genannt, werden Abstände als Entfernungen von Chromosomenbändern, die durch eine spezielle Färbung der Metaphase-Chromosomen darstellbar sind, oder als Anzahl der Nukleotide im DNA-Doppelstrang mit der Einheit Basenpaare (bp) angegeben (GELDERMANN, 2005).

Eine angenäherte Umrechnung der genetischen Einheit cM in die physikalische Einheit bp ist möglich. Da die Wahrscheinlichkeit der Rekombination jedoch im gesamten Genom variiert, ist die Beziehung zwischen cM und bp nicht-linear. Dennoch entspricht im Durchschnitt 1 cM etwa 1.000.000 bp (MEDLAND, 2013). Die Rate, mit der Rekombinationen auftreten, variiert stark zwischen den Arten, zwischen den Individuen, zwischen den Geschlechtern und zwischen den verschiedenen Regionen des Genoms (NACHMAN, 2002). Für den Menschen beispielsweise gaben KONG et al. (2002) einen Wert von 1,19 cM/Mb an, ARIAS et al. (2009) einen Wert von 1,25 cM/Mb für das Rind und SOLIGNAC et al. (2007) sogar einen Wert von 22,04 cM/Mb für die Honigbiene. GARCÍA-GÁMEZ et al. (2012) schätzten den durchschnittlichen Umrechnungsfaktor über das Genom für das spanische Churra Schaf auf 1,85 cM/Mb, wobei die cM/Mb-Verhältnisse, die für jedes Chromosom einzeln durch Vergleich der genetischen und physikalischen Karten berechnet wurden, zwischen 1,5 auf Chromosom 2 und 2,37 auf Chromosom 20 schwankten.

2.4.4 Kopplung, Kopplungsgleichgewicht, Kopplungsungleichgewicht

Als Johann Gregor Mendel (1822–1884) bei seinen Kreuzungsexperimenten mit Erbsen eine unabhängige Verteilung von Merkmalen beobachtete (Unabhängigkeitsregel), hatte er wahrscheinlich Eigenschaften ausgewählt, die nicht dicht beieinander auf demselben Chromosom lokalisiert waren (PULST, 1999). In weiteren Studien fand beispielsweise MORGAN (1911) in einem klassischen Experiment mit *Drosophila* heraus, dass es nicht nur eine zufälligen Trennung im Sinne von Mendel gibt, sondern auch Verknüpfungen von Merkmalen vorhanden sind, die auf den Chromosomen nahe beieinander liegen.

Unter dem Begriff Kopplung (*linkage*) versteht man diese räumliche Nähe zweier Loci, so dass Allele auf demselben Chromosom während der Meiose nicht rekombiniert werden, sondern verbunden bleiben und somit gemeinsam vererbt werden (PULST, 1999).

Von Kopplungsgleichgewicht (*linkage equilibrium*) spricht man, wenn eine unabhängige Vererbung der Allele vorliegt. Betrachtet man dafür zwei getrennte Loci mit den Allelen A und a bzw. den Allelen B und b, gibt es die folgenden vier möglichen Allelkombinationen: AB, Ab, aB und ab. Liegt Kopplungsgleichgewicht vor, dann entsprechen die Frequenzen der Allelkombinationen den entsprechenden Produkten der Einzelfrequenzen (LEWONTIN & KOJIMA, 1960).

Kopplungsungleichgewicht (*linkage disequilibrium, LD*) liegt vor, wenn zwei Allele benachbarter Genorte auf einem Haplotypen in einer Population häufiger vorkommen, als es durch Zufall bei unabhängiger Kombination der Allele entsprechend ihrer Allelhäufigkeit zu erwarten wäre (BICKEBÖLLER & FISCHER, 2007). Dies kann sowohl durch natürliche Selektion oder durch Zufall entstehen (PULST, 1999).

2.4.5 Kartierungsmethoden

2.4.5.1 Kopplungskartierung

Die Kopplungskartierung (*linkage mapping*) nutzt Rekombinationsraten, das heißt relative Häufigkeiten von Crossing-over-Ereignissen, indem sie diese als Messwerte für Abstände verwendet (GELDERMANN, 2005). Um die unbekannte Position von Genen zu finden, die für verschiedene Phänotypen prädisponieren, werden diese Positionen im Vergleich zu Marker-Loci mit bekannter Position im Genom geschätzt (TERWILLIGER & GÖRING, 2009).

Die Kopplungskartierung ist am leistungsstärksten, wenn der Phänotyp auf ein einzelnes Gen zurückzuführen ist. Ihre Power wird reduziert, wenn unvollständige Penetranz oder Locusheterogenität vorliegt, das heißt, wenn Mutationen in vielen Genen zum gleichen Phänotyp führen können (TEARE & SANTIBAÑEZ KOREF, 2014).

Nachteile der Kopplungskartierung sind zum einen, dass Proben von verwandten Tieren (Familien) erforderlich sind, damit die gemeinsame Vererbung von Markern und gesuchtem Phänotyp verfolgt werden kann. Zum anderen lässt sich ein gesuchtes Gen häufig nur innerhalb eines sehr großen Bereichs von mehreren Megabasen kartieren, wenn nur eine begrenzte Anzahl von Meiosen in einer Kartierungspopulation auftreten (COLLINS, 2009). Da diese Bereiche hunderte von Kandidatengenen umfassen können, ist eine Feinkartierung, beispielsweise mithilfe von LD, sinnvoll (CARLSON et al., 2004).

2.4.5.2 Kopplungsungleichgewichtskartierung

Die Kopplungsungleichgewichtskartierung (*linkage disequilibrium mapping*), auch Assoziationskartierung genannt (MARCH, 1999), versucht eine chromosomale Region zu finden, die bei den untersuchten Individuen identisch aufgrund gemeinsamer Herkunft (*identical by descent, IBD*) ist, da eine solche Region das Gen bzw. die Gene für das untersuchte Merkmal tragen kann. Die IBD Region wird dabei beispielsweise mithilfe von eng gekoppelten Markerloci, die bei den Merkmalsträgern identische Allele

aufweisen, aufgespürt, d. h. gleichzeitig bestehende Kopplungsungleichgewichte zwischen mehreren eng miteinander gekoppelten Markern und einem bestimmten Merkmal werden nachgewiesen (MEUWISSEN & GODDARD, 2000).

Wenn seit einem Mutationsereignis noch nicht viel Zeit vergangen ist, befindet sich die Mutation in Kopplungsungleichgewicht mit den Allelen naher Loci. Kopplungsungleichgewicht hat somit eine starke Aussagekraft für die genetische Kartierung (PULST, 1999).

Der große Vorteil der Kopplungsungleichgewichtskartierung ist die höhere Kartierungsgenauigkeit im Vergleich zur Kopplungskartierung. Diese ist auf die Nutzung der großen Anzahl historischer meiotischer Brüche, das heißt der über viele Generationen angesammelten Rekombinationen, und auf die einfachere Probensammlung, da keine Stammbaumdaten erforderlich sind, zurückzuführen (COLLINS, 2009).

2.4.5.3 Kombinierte Kopplungsungleichgewichts- und Kopplungskartierung

Die Kopplungskartierung von Genen wird dadurch erschwert, dass Genotypen nicht einfach aus Phänotypen abgeleitet werden können, da der quantitative Phänotyp auch von anderen Genen und Umweltfaktoren beeinflusst wird. Des Weiteren wurde die Kopplungsungleichgewichtskartierung aufgrund der zweifelhaften Kartierungspower in Hinblick auf die Markerdichte kritisiert (MEUWISSEN et al., 2002), so dass neben MEUWISSEN et al. (2002) auch verschiedene andere Autoren (z.B. ZHAO et al. (1999); XIONG und JIN (2000); FARNIR et al. (2002)) eine Methode zur Kombination von Linkage- und LD-Kartierung (kombinierte Kopplungsungleichgewichts- und Kopplungskartierung, *combined linkage disequilibrium and linkage analysis, cLDLA*) vorschlugen.

Mit dieser Methode werden die Vorteile beider Kartierungsmethoden genutzt, indem sowohl Informationen über aktuelle Rekombinationen innerhalb der genotypisierten Generationen als auch historische

Rekombinationen einfließen (MEUWISSEN et al., 2002).

Das Design einer cLDLA ist deshalb auch besonders für eine große Anzahl an Familien mit nur wenig Informationen über vorherige Generationen geeignet, um die Kartierungsgenauigkeit zu steigern (LEE & VAN DER WERF, 2004).

Die von MEUWISSEN et al. (2002) beschriebene Methode wurde auch in dieser Studie angewendet, wie in Kapitel 3.2.2.4 erläutert.

2.5 Phänotypisierung

2.5.1 Selektive Phäno- und Genotypisierung

Die Leistung einer genetischen Kartierungsstudie (statistische Power) hängt von der Erbllichkeit des Merkmals, der Anzahl der in die Analyse einbezogenen Individuen und der genetischen Vielfalt unter ihnen ab. Selektive Phänotypisierungs- und Genotypisierungsstrategien bei der Auswahl von Individuen tragen dazu bei, die Unähnlichkeit zwischen ihnen zu maximieren, den Stichprobenumfang einer genetischen Kartierungsstudie zu reduzieren (JIN et al., 2004) und somit die Kosten für QTL-Studien zu senken (SEN et al., 2009). Bei der selektiven Genotypisierung wird ein ausgewählter Teil der phänotypisierten Individuen genotypisiert (LANDER & BOTSTEIN, 1989; DARVASI & SOLLER, 1992) und bei der selektiven Phänotypisierung wird ein ausgewählter Teil der genotypisierten Individuen phänotypisiert. Letzteres ist nützlich, wenn die Phänotypisierung schwierig oder kostspielig ist (JIN et al., 2004).

DARVASI und SOLLER (1992) führten eine selektive Genotypisierung durch, indem sie nur die informativsten Individuen aus den rechten und linken Ausläufern der Phänotypenverteilung der gesamten Stichprobenpopulation genotypisierten. Sie zeigten, dass die für eine bestimmte Power notwendige Anzahl an genotypisierten Individuen durch eine Erhöhung der Anzahl an phänotypisierten Individuen deutlich verringert werden kann und kamen zu dem Schluss, dass es in

Einzelmerkmalsstudien fast nie sinnvoll sei, mehr als die oberen und unteren 25% einer Population zu genotypisieren.

In dieser Studie wurde ebenfalls eine selektive Genotypisierung zur Steigerung der Power des Designs verwendet, wie in Kapitel 3.1.1.2 dargestellt.

2.5.2 Phänokopien

Ähnlichkeiten oder Übereinstimmungen im Phänotyp, denen jedoch umweltbedingte, nichterbliche Ursachen zugrunde liegen, werden als Phänokopie bezeichnet (GRAW, 2006). Werden solche Phänokopien in Kartierungsstudien verwendet, kann dies zu einer Reduktion der statistischen Power sowie fehlerhaften Ergebnissen führen. Die Auswirkungen von Phänokopien bei dieser Studie werden in Kapitel 5.2.1 näher beschrieben.

2.5.3 Korrekturfaktoren für individuelle Körpergröße

Um Autokorrelationen zwischen Schwanzlänge und Körpergröße in einem gemischten linearen Modell für die Kartierung (z. B. wie in ROTHAMMER et al. (2014), KUNZ et al. (2016), MEDUGORAC et al. (2017) und MÜLLER et al. (2017)) zu berücksichtigen, muss die Schwanzlänge auf die individuelle Körpergröße korrigiert werden. Frühere Studien verwendeten Geburtsgewicht (BRANFORD OLTENACU & BOYLAN, 1974), Körpergewicht (CARTER, 1976; JAMES et al., 1990; GREEFF et al., 2015), Alter (CARTER, 1976), Gesamtkörperlänge (SHELTON, 1977), die Länge der Wirbelsäule (GREEFF et al., 2015) oder die "Länge von Anus bis Sprunggelenk, an einem gestreckten und senkrecht zur Wirbelsäule gehalten Bein" (SCOBIE & O'CONNELL, 2002) als Korrekturfaktoren. Keine dieser Studien hat jedoch die Messungen verschiedener Körpermerkmale gründlich untersucht und diese auf ihre Eignung als Korrekturfaktoren verglichen. Auch ein optimaler Zeitpunkt zur Erhebung der Messdaten wurde noch nicht ermittelt.

3 Material und Methoden

3.1 Material

3.1.1 Probenmaterial

3.1.1.1 Material für die Messreihen

Um geeignete Korrekturfaktoren für die individuelle Körpergröße und einen optimalen Messzeitpunkt für die Erfassung der Phänotypen identifizieren zu können, wurden diverse Körpermaße in zwei Merinolandschaftgruppen wöchentlich von der Geburt bis zum Absetzalter von acht Wochen erhoben. Diese Messreihen wurden in einer Schäferei mit ausreichend großer Tierzahl durchgeführt, in der kein standardmäßiges Kupieren der Lämmer praktiziert wird.

Die erste Gruppe bestand ursprünglich aus 50 Lämmern, von denen 43 Lämmer an zwei aufeinanderfolgenden Tagen im November 2017 geboren wurden. Um die Gruppengröße zu erhöhen, wurden sieben Lämmer, die in der darauffolgenden Woche geboren wurden, hinzugefügt. Von dieser gesamten Gruppe konnten insgesamt 43 Lämmer bis zum Absetzen gemessen werden, sieben Lämmer wurden aus der Messgruppe ausgeschlossen, weil eines frühzeitig verstarb und sechs wegen Schwanzverletzungen kupiert werden mussten.

In Gesprächen mit MLS-Züchtern im Rahmen dieser Arbeit wurde als Hauptursache für die Schwanzverletzungen eine ausgeprägte Mütterlichkeit bei den Merinolandschafen vermutet. Beim Trockenlecken nach der Geburt fressen die Mutterschafe Teile der Plazenta und knabbern hierbei versehentlich teilweise auch den Schwanz ihrer neugeborenen Lämmer an. Die Meinung der Züchter wird auch durch unsere Beobachtung bestätigt, dass alle in dieser Studie gefundenen Schwanzverletzungen innerhalb der ersten Lebenswoche auftraten und bei Geschwistern meist der gesamte Wurf betroffen war. Jedoch wurde ein solches Verhalten der Mütter weder im Rahmen dieser Studie noch von den Züchtern direkt beobachtet und dokumentiert.

Die zweite Gruppe wurde an zwei aufeinander folgenden Tagen im Februar 2018 geboren. Die ursprünglich 51 Lämmer reduzierten sich bis zum Absetzalter von acht Wochen aus denselben Gründen wie oben erwähnt (vier Lämmer starben, zwei Lämmer mussten kupiert werden) auf 45 Lämmer.

Insgesamt konnten also 88 zufällig ausgewählte Lämmer wöchentlich über einen Zeitraum von acht Wochen gemessen werden. Diese Gruppe setzte sich aus 37 männlichen Lämmern und 51 weiblichen Lämmern bzw. 21 Einlingen und 67 Zwillingen zusammen, die sich zwischen den Geschlechtern wie folgt aufteilen lassen: 9 männliche Einlinge, 12 weibliche Einlinge, 11 Lämmer von männlichen Zwillingspärchen, 21 Lämmer von weiblichen Zwillingspärchen und 35 Lämmer von gemischtgeschlechtlichen Zwillingspärchen.

3.1.1.2 Material für die Kartierung

Die Probennahmen erfolgten im November/Dezember 2017, März 2018, November 2018 und März 2019 in derselben Schäferei wie die Vermessungsstudie. Hier wurden aus 2293 visuell betrachteten Lämmern 253 mit besonders kurzem bzw. besonders langem Schwanz für die Phänotypisierung und Probenahme ausgewählt (*Tab. 2*).

Darüber hinaus wurden 24 Proben, die für diese Arbeit entnommen wurden, von der Universität Gießen zur Verfügung gestellt. Diese 24 im Februar/März 2018 phänotypisierten Lämmer wurden wiederum aus 102 visuell betrachteten Tieren ausgewählt.

Bei dieser Auswahl wurden wie von DARVASI und SOLLER (1992) für eine selektive Genotypisierung beschrieben nur Lämmer mit extrem kurzen bzw. extrem langen Schwänzen berücksichtigt (*Abb. 8*).

Damit lagen insgesamt 277 Blutproben von MLS-Lämmern vor, von denen nach Begutachtung der erhobenen Messdaten 260 (124 kurzschwänzige Lämmer und 136 langschwänzige Lämmer) für die Genotypisierung ausgewählt wurden.

Außerdem waren noch 22 Blutproben von Böcken (19 aus der Schäferei, drei von der Universität Gießen), den potentiellen Vätern der Lämmer, verfügbar und wurden ebenfalls genotypisiert.

Für die Entnahme der Blutproben lag der Arbeitsgruppe (AG) Populationsgenomik eine Genehmigung der Regierung von Oberbayern vor (Genehmigungsnummer: 55.2-1-54-2532.0-47-2016).

Tabelle 2: Beprobte Lämmer

Lammsaison	Visuell betrachtete Lämmer	Beprobte Lämmer		Lämmer mit Schwanzverletzung
		„kurz“	„lang“	
Nov/Dez 2017	623	55 (8,83 %)		20 (3,21 %)
		22 (3,53 %)	33 (5,30 %)	
März 2018	1038	117 (11,27 %)		48 (4,62 %)
		55 (5,30 %)	62 (5,97 %)	
Gießen Feb/März 2018	102	24 (23,53 %)		-
		19 (18,63 %)	5 (4,90 %)	
Nov. 2018	55	9 (16,36 %)		-
		4 (7,27 %)	5 (9,09 %)	
März 2019	577	72 (12,48 %)		32 (5,55 %)
		25 (4,33 %)	47 (8,15 %)	
Gesamt	2395	277 (11,57 %)		100 (4,18 %)
		125 (5,22 %)	152 (6,35 %)	

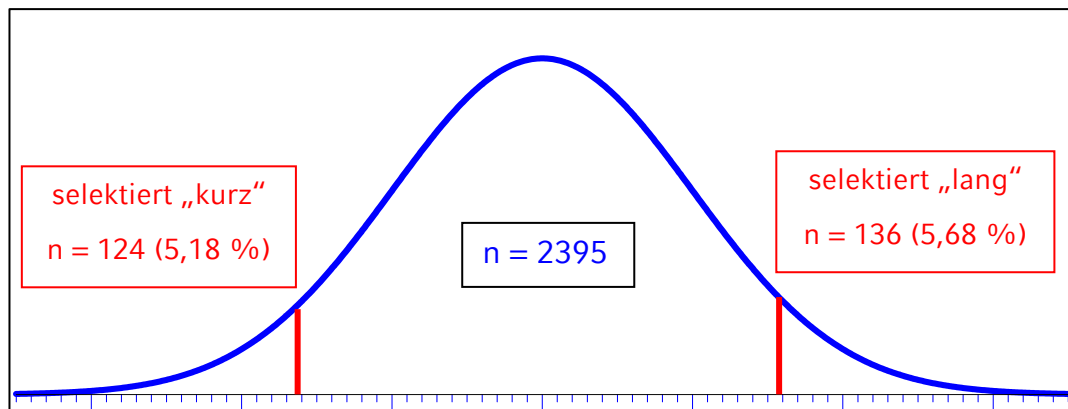


Abbildung 8: Grafische Darstellung der in dieser Studie angewendeten selektiven Genotypisierung

3.1.2 Verwendete Programme

In *Tabelle 3* sind alle Programme, die in dieser Arbeit Verwendung fanden, mit dem jeweiligen Verwendungszweck aufgelistet.

Tabelle 3: Programme

Programmname	Verwendungszweck und Quelle
ASR_{EML}	Varianzkomponentenanalyse http://www.vsnr.co.uk/de/software/asreml/
BEAGLE 5.0	Haplotypisierung und Imputation von Genotypen https://faculty.washington.edu/browning/beagle/b5_0.html
MICROSOFT OFFICE 2016	Textverarbeitung, Tabellenkalkulation, grafische Darstellung der LRT-Werte http://office.microsoft.com/de-de
MICROSOFT SQL SERVER 2014	Interne Datenverwaltung (Genotypen, Haplotypen, Phänotypen) und Vorbereitung von Daten für Analysen https://docs.microsoft.com/de-de/sql/sql-server
MICROSOFT VISUAL STUDIO 2012	Erstellung von Programmen für die Datenvorbereitung, die Datenanalyse und die Darstellung von Analyseergebnissen https://www.visualstudio.com/
R 3.5.1	Datenverarbeitung und grafische Darstellung http://www.r-project.org/

3.1.3 Verwendete Datenbanken

Eine Auflistung der in dieser Arbeit verwendeten Datenbanken findet sich in *Tabelle 4*.

Tabelle 4: Datenbanken

Datenbank	Verwendungszweck und Quelle
Ensembl	Genkarten http://www.ensembl.org/index.html
NCBI PubMed	Literaturrecherche https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/

3.1.4 Geräte

Tabelle 5 zeigt alle Geräte, die zur Phänotypisierung, Probenahme und DNA-Präparation verwendet wurden.

Tabelle 5: Geräte

Bezeichnung	Hersteller
Autoklav	Thermo Fisher Scientific
Babywaage	Monzana
Gefrierschrank	Bosch
Holzbrett zur Schwanzlängenmessung	selbstgebaut
Körmaß aus dem Hundesport	Bromet
Kühlschrank	Siemens
Magnetrührer	IKA-Werke
Maßband	Prym
NanoDrop Spektrophotometer ND-100	peqlab
pH-Meter	Hanna Instruments
Personenwaage	Beurer
Pipetten	Abimed, Gilson, Rainin
Thermomixer	Bachofer
Vortexer	Bachofer
Wärmeschrank	Bachofer
Zentrifuge	Hettich

3.1.5 Verbrauchsmaterialien

Für die Probenahme und DNA-Präparation verwendete Verbrauchsmaterialien sind in *Tabelle 6* aufgeführt.

Tabelle 6: Verbrauchsmaterialien

Bezeichnung	Hersteller
EDTA-Monovetten (4 ml)	Sarstedt
Einmalkanülen (0,9 x 40 mm)	Braun
Einmalhandschuhe	Unigloves
ReliaPrep™ Blood gDNA Miniprep System	Promega
Multi-Adapter	Braun
Pipettenspitzen	Biozym, Mettler Teledo
Reaktionsgefäße	Biozym
Vacutainer EDTA-Röhrchen	BD
Vacutainer Einmalhalter	BD
Vacutainer Kanülen (0,9 x 38 mm)	BD

3.1.6 Chemikalien und Reagenzien

Die für die DNA-Extraktion verwendeten Chemikalien und Reagenzien sind in *Tabelle 7* dargestellt.

Tabelle 7: Chemikalien und Reagenzien

Bezeichnung	Hersteller
Dinatriumhydrogenphosphat (Na_2HPO_4)	Merck
Kaliumchlorid (KCl)	Merck
Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4)	Merck
Magnesiumchloridhexahydrat (MgCl_2)	Merck
Natriumchlorid (NaCl)	Roth
Salzsäure (HCl)	Roth
Saccharose	Roth
Trishydroxymethylaminomethan (Tris)	Roth
Triton X-100	Sigma

3.1.7 Puffer

Für die Präparation der DNA aus den Blutproben wurden zwei Puffer hergestellt und verwendet (*Tab. 8*).

Tabelle 8: Puffer

Puffer	Bestandteile
Lysispuffer (Puffer A)	110 g Saccharose gelöst in 500 ml ddH ₂ O 10 ml Triton X-100 5 ml MgCl ₂ ·6H ₂ O 1 ml 1M Tris-HCl pH 7,5 ad 1 l dH ₂ O
Phosphatgepufferte Salzlösung (PBS-Puffer)	8,0 g NaCl 0,2 g KCl 1,44 g Na ₂ HPO ₄ 0,24 g KH ₂ PO ₄ ad 1 l dH ₂ O (wird auf pH 7,4 eingestellt)

3.2 Methoden

3.2.1 Methoden bei der Messreihe

3.2.1.1 Erhebung der Messdaten

Folgende Körpermaße wurden in der gesamten Messgruppe, die insgesamt aus 88 Lämmern bestand, gemessen (*Tab. 9*): Schwanzlänge (SL), Körpergewicht (KG), Widerristhöhe (WH), Rückenlänge (RH) und Körperlänge gemessen mit einem Körmaß (KL). Nur in der ersten Lämmergruppe, bestehend aus 43 Lämmern, wurden folgende Körpermaße zusätzlich erhoben (*Tab. 9*): Körperlänge gemessen mit einem Maßband (KL_m), die Länge des Femurs (FL), die Länge des Metakarpus (ML) und die Länge von Anus bis Sprunggelenk (AS). Da eine Zwischenauswertung der in der ersten Messgruppe gesammelten Daten

eine hohe Ungenauigkeit der letzten vier Messgrößen ergab, wurden diese in der zweiten Messgruppe nicht weiter erfasst.

Tabelle 9: Messverfahren für neun Merkmale, die wöchentlich bei wachsenden Lämmern von der Geburt bis zur achten Lebenswoche gemessen wurden.

Gemessen wurden die Körpermerkmale Schwanzlänge (SL), Körpergewicht (KG), Widerristhöhe (WH), Rückenhöhe (RH), Körperlänge gemessen mit einem Körmaß (KL) und mit einem Maßband (KL_m), Länge des Femurs (FL), Länge des Metakarpus (ML) und Länge von Anus bis Sprunggelenk (AS).

Körper- maß	Messinstrument	Messpunkte	Mess- gruppe
SL	angefertigtes Holzbrett	vom Anus zur Schwanzspitze	1, 2
KG	Babywaage, Personenwaage		1, 2
WH	Körmaß aus dem Hundesport	vom Boden bis zum dorsalsten Punkt des Widerristes	1, 2
RH	Körmaß aus dem Hundesport	vom Boden bis zum dorsalsten Punkt des <i>Os sacrum</i> s	1, 2
KL	Körmaß aus dem Hundesport	vom kranialsten Punkt des <i>Sternum</i> s bis zum <i>Tuber ischiadicum</i>	1, 2
KL_m	Maßband	vom kranialsten Punkt des <i>Sternum</i> s bis zum <i>Tuber ischiadicum</i>	1
FL	Maßband	vom dorsalen Ende des <i>Trochanter major</i> bis zum <i>Condylus lateralis ossis femoris</i>	1
ML	Maßband	von der <i>Tuberositas ossis metacarpalis</i> bis zum Sagittalkamm der <i>Trochlea metacarpi</i>	1
AS	angefertigtes Holzbrett	rechtes Bein gestreckt und parallel zum Schwanz auf dem Holzbrett gehalten, Messung der Länge von Anus bis zum <i>Tuber calcanei</i>	1

Das Körpergewicht wurde bis zu einem Gewicht von 20 kg mit einer Babywaage erhoben, im Anschluss daran, bei den schwereren Lämmern, mit einer Personenwaage. Die Höhen WH und RH wurden mit einem Körmaß gemessen, das üblicherweise im Hundesport zur Messung von Widerristhöhe, Körperlänge und Brustbreite verwendet wird (Abb. 9). Dabei wurde WH als die Höhe vom Boden bis zum dorsalsten Punkt des

Widerristes bei einem aufrecht stehenden Lamm definiert (Abb. 10). Für RH wurde die Höhe vom Boden bis zum dorsalsten Punkt des *Os sacrum*s eines aufrecht stehenden Lammes erfasst (Abb. 11). Die Körperlänge wurde sowohl mit dem Körmaß (Abb. 12), mit dem auch WH und RH erhoben wurden, als auch mit einem Maßband gemessen. In beiden Fällen wurde sie definiert als die Länge vom kranialsten Punkt des *Sternum*s bis zum *Tuber ischiadicum*. Die Länge FL wurde mit einem Maßband vom dorsalen Ende des *Trochanter major* bis zum *Condylus lateralis ossis femoris* gemessen. Das ebenfalls mit einem Maßband gemessene Merkmal ML, wurde als die Länge von der *Tuberositas ossis metacarpalis* bis zum Sagittalkamm der *Trochlea metacarpi* definiert. Die Schwanzlänge wurde vom Anus bis zur Schwanzspitze gemessen. Dafür wurde ein Holzbrett mit einer mittigen Rinne für den Schwanz und einer seitlichen Messskala zum Ablesen der Schwanzlänge angefertigt (Abb. 13). Für die Längenerhebung wurde der Schwanz am stehenden Lamm parallel zum Boden gehalten und in die Rinne des Holzbrettes gelegt, das ebenfalls parallel zum Boden gehalten und am Anus angesetzt wurde (Abb. 14). Die Schwanzlänge wurde außerdem bei allen 88 Lämmern nach dem OviCap-Schema eingeteilt (Abb. 15). Diese Art der Schwanzlängenerfassung ist Teil der Herdbuchdatenbank OviCap der Vereinigung Deutscher Landesschaftszuchtverbände e. V. (VDL) und des Bundesverbands Deutscher Ziegenzüchter e. V. (BDZ), welche der Herdbuchführung, Zuchtwertschätzung und Anpaarungsplanung dient (VEREINIGTE INFORMATIONSSYSTEME TIERHALTUNG W. V. (VIT), 2017). In der Studie von SCOBIE und O'CONNELL (2002) wurde die Länge von Anus bis Sprunggelenk erhoben, indem das gestreckte Hinterbein im rechten Winkel zur Wirbelsäule gehalten wurde. Für die vorliegende Studie wurde diese Methode verändert und das rechte, gestreckte Hinterbein parallel zum Schwanz auf dem Holzbrett gehalten, weil die Lämmer für die ursprünglich beschriebene Methode nicht aufrecht und still genug standen. Darüber hinaus wurden für jedes Lamm Geburtstag, Geschlecht und Wurfgröße erfasst und bei Lämmern, die aufgrund von Schwanzverletzungen kupiert werden mussten, wurde die Kupierwunde im Heilungsverlauf beobachtet.



Abbildung 9: Bromet Körmaß aus dem Hundesport



Abbildung 10: Messung der Widerristhöhe



Abbildung 11: Messung der Rückenhöhe



Abbildung 12: Messung der Körperlänge gemessen mit einem Körmaß



Abbildung 13: Angefertigtes Holzbrett zur Messung der Schwanzlänge (gebaut nach Vorlage von Elena Kuhnle)



Abbildung 14: Messung der Schwanzlänge

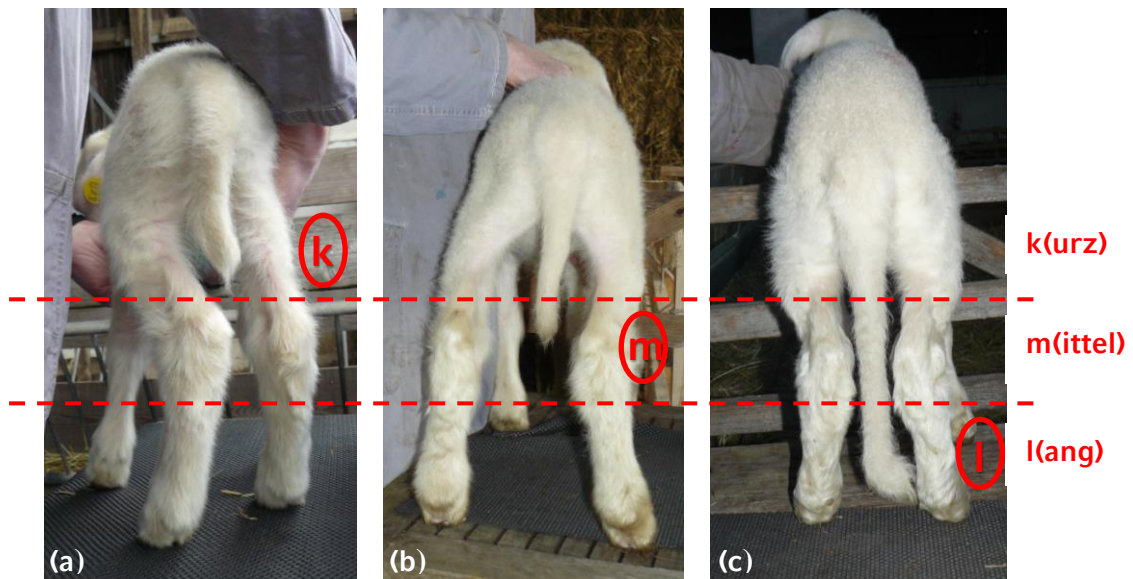


Abbildung 15: Bestimmung der Schwanzlänge nach dem OviCap-Schema

- (a) Merinolandschaf-Lamm mit kurzem Schwanz (kurz = Schwanzende oberhalb Sprunggelenk)
- (b) Merinolandschaf-Lamm mit mittlerem Schwanz (mittel = Schwanzende in Höhe des Sprunggelenks)
- (c) Merinolandschaf-Lamm mit langem Schwanz (lang = Schwanzende unterhalb Sprunggelenk)

Um die Reproduzierbarkeit der Messungen in verschiedenen Altersstufen zu überprüfen, wurden in der zweiten Messgruppe jede Woche wiederholte Messungen von SL, WH, RH und KL durchgeführt. Zu diesem Zweck wurden nach einmaliger Messung der gesamten Gruppe zehn Lämmer zufällig ausgewählt und von derselben Person, die die erste Messung durchgeführt hatte, ein wiederholtes Mal gemessen. Der typische Fehler, der zwischen der ersten und der zweiten Messung für dasselbe Lamm am selben Tag auftrat, wurde dann nach HOPKINS (2000) berechnet.

3.2.1.2 Statistische Auswertung der Messdaten

Zum Vergleich der Messungen in Bezug auf Geschlecht und Wurfgröße wurde ein t-Test mit jeweils zwei Gruppen (männlich und weiblich, Einlinge und Zwillinge) in R mit dem Paket „stats“ durchgeführt. Um zwischen männlichen und weiblichen Lämmern von Einlings- und Zwillingengeburt zu unterscheiden, wurde außerdem mit

demselben Programm eine univariate Varianzanalyse (ANOVA) mit den folgenden fünf Gruppen durchgeführt: männliche Einlinge, weibliche Einlinge, männliche Zwillingspärchen, weibliche Zwillingspärchen und gemischtgeschlechtliche Zwillingspärchen.

Zur Untersuchung der Korrelation zwischen SL und den anderen Körpermaßen wurden Pearson Korrelationen berechnet und eine Regressionsanalyse in R mit dem Paket „stats“ für jede Woche durchgeführt. Für die lineare Regressionsanalyse wurden 19 Modelle (*Tab. 10*) ausgewertet. Um das am besten geeignete Regressionsmodell zu finden, wurde ein schrittweises Verfahren zur Variablenauswahl verwendet, indem jeweils zum Modell mit dem höchsten Determinationskoeffizienten R^2 eine zusätzliche Variable hinzugefügt wurde. Für den Vergleich der Modelle wurde R^2 über einen Zeitraum von sieben Wochen für alle Modelle mit KG und über einen Zeitraum von acht Wochen für alle Modelle ohne KG gemittelt und diese Werte im Vergleich berücksichtigt.

Tabelle 10: Modelle der linearen Regressionsanalyse

Für die abhängige Variable Schwanzlänge (SL) wurden verschiedene Kombinationen aus den unabhängigen Variablen Widerristhöhe (WH), Körperlänge gemessen mit einem Körmaß (KL), Körpergewicht (KG), Rückenlänge (RH), Wurfgröße, Geschlecht und Wurfgröße × Geschlecht angewendet.

Modell	abhängige Variable	unabhängige Variablen						
	SL	WH	KL	KG	RH	Wurfgröße	Geschlecht	Wurfgröße × Geschlecht
1	×	×						
2	×		×					
3	×			×				
4	×				×			
5	×					×		
6	×						×	
7	×							×
8	×	×	×					
9	×	×		×				
10	×	×			×			
11	×	×				×		
12	×	×					×	
13	×	×						×
14	×	×	×					×
15	×	×		×				×
16	×	×			×			×
17	×	×	×	×				×
18	×	×		×	×			×
19	×	×	×	×	×			×

3.2.2 Methoden bei der Kartierung

3.2.2.1 Erhebung der Phänotypen

Für jedes zur Phänotypisierung und anschließenden Beprobung ausgewählte Lamm wurde ein Phänotypisierungsbogen (Anh. 2) ausgefüllt, worauf die folgenden Informationen über das Lamm dokumentiert wurden: Tieridentifikationsnummer, Geburtsdatum, Geschlecht, Wurfgröße, aktueller Aufenthaltsort und, falls bekannt, die Tieridentifikationsnummern von Vater und Mutter. Darüber hinaus wurden folgende Informationen über die Probe abgefragt: Datum der Probennahme, Probennehmer, Art der Probe (Blut, Haare oder Gewebe; hier in allen Fällen Blut) und Probennummer. Als Körpermerkmale wurden

für jedes Lamm SL, die Schwanzlängeneinteilung nach Ovicap, KG, RH, WH, und KL erfasst.

3.2.2.2 Probenentnahme

Die Blutproben wurden aus der *Vena jugularis* der Lämmer entnommen. Zum Einsatz kamen eine 0,9 × 40 mm Kanüle mit einer 4 ml EDTA-Monovette und einem Multi-Adapter sowie eine 0,9 × 38 mm Vacutainer Kanüle mit einem 3 ml Vacutainer EDTA-Röhrchen und einem Vacutainer Einmalhalter.

3.2.2.3 Extraktion der DNA und Messung von Qualität und Quantität

Die Extraktion der DNA erfolgte im Labor der AG Populationsgenomik des Veterinärwissenschaftlichen Departments der LMU München mithilfe eines Leukozytenpellets.

Für die Herstellung des Leukozytenpellets wurde zunächst ein Lysepuffer (Puffer A) angefertigt, der aus 110 g Saccharose, 10 ml Triton X-100, 5 ml 1 M $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ und 1 ml 1 M Tris-HCl pH 7,5 bestand. Hierfür wurde zuerst die Saccharose in 500 ml ddH₂O gelöst, dann Triton X-100, MgCl_2 und Tris-HCl hinzugefügt und mit dH₂O auf ein Volumen von 1 l aufgefüllt.

Anschließend wurde 1 ml des EDTA-Blut in einen 15 ml Tube zusammen mit 1 ml Puffer A gegeben, durch zehnmaliges Schütteln vermischt, zehn Minuten lang bei Raumtemperatur bei 3000 U/min zentrifugiert und der Überstand entfernt. Nach der Resuspension des Pellets in 1 ml Puffer A, wurde das Ganze wiederum durch zehnmaliges Schütteln gemischt, bei Raumtemperatur für zehn Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert und der Überstand wieder entfernt. Dieser Vorgang wurde daraufhin noch ein weiteres Mal wiederholt und im Anschluss wurde das Pellet in 1000 µl phosphatgepufferte Salzlösung (PBS) resuspendiert.

Daraufhin wurde aus 200 µl dieser Suspension mithilfe des Promega Kits „*Relia Prep™ Blood gDNA Miniprep System*“ die DNA nach dem Herstellerprotokoll isoliert (PROMEGA CORPORATION, 2012).

Zur Bestimmung der Reinheit der Nucleinsäurelösung wurde ein NanoDrop Spektrophotometer verwendet. Damit wurden die optischen Dichten (OD) bei einer Wellenlänge von 260 nm (OD_{260}), dem Absorptionsmaximum von Nukleinsäuren, und 280 nm (OD_{280}), dem Absorptionsmaximum von Proteinen, bestimmt und deren Verhältnis berechnet. Als Richtwert bei DNA gilt ein Wert von 1,8. Ist dieser Wert deutlich niedriger, deutet dies auf eine Kontamination der Probe mit Proteinen oder anderen organischen Substanzen hin. Ist dieser Wert deutlich höher, kann dies auf eine Verunreinigung mit RNA hinweisen.

Mit dem Spektrophotometer wurde auch die Konzentration der DNA bestimmt. Dazu wurde die UV-Absorption der Probe bei 260 nm genutzt. Eine OD_{260} von 1 entspricht 50 µg/ml doppelsträngiger DNA. Dieser Wert ist auch für die Genotypisierung mit dem Illumina SNP-Chip erwünscht. Wenn die Konzentration der DNA viel höher ist, muss die Lösung mit destilliertem Wasser verdünnt werden. Wenn sie viel niedriger ist, muss die Extraktion wiederholt werden.

3.2.2.4 Kombinierte Kopplungsungleichgewichts- und Kopplungskartierung

3.2.2.4.1 Genotypisierung mittels SNP-Chip und Qualitätskontrolle

Die Genotypisierung der 260 Proben der MLS-Lämmer und der 22 Proben der potentiellen Väter wurde von der Tierzuchtforschung e. V. München in Grub mit dem Illumina OvineSNP50 BeadChip (Illumina, San Diego, USA) nach Herstellerangaben durchgeführt. Der Chip enthält 54.241 annähernd gleichmäßig über das Genom verteilte SNPs mit einem durchschnittlichen Abstand von 50,9 kb (ILLUMINA, 2015).

Die in *Abbildung 16* dargestellte Funktionsweise des BeadChips lässt sich in vier Schritte unterteilen (GUNDERSON et al., 2005). Zunächst wird das gesamte Genom tausendfach amplifiziert, damit ausreichend DNA für die Hybridisierung vorhanden ist. Daraufhin kommt es zur Hybridisierung der amplifizierten DNA an spezifische und empfindliche Oligonukleotid-Fängersonden auf dem Chip. Anschließend werden die SNPs durch eine

allelspezifische Primer-Verlängerungsreaktion mit biotinmarkierten Desoxyribonukleosidtriphosphaten identifiziert. Dadurch wird es möglich, SNP-Klassen mithilfe einer bestimmten Farbe an der jeweiligen Matrixposition abzufragen. Zuletzt wird diese Farbreaktion noch verstärkt, damit ein besseres Auslesen der Daten möglich ist.

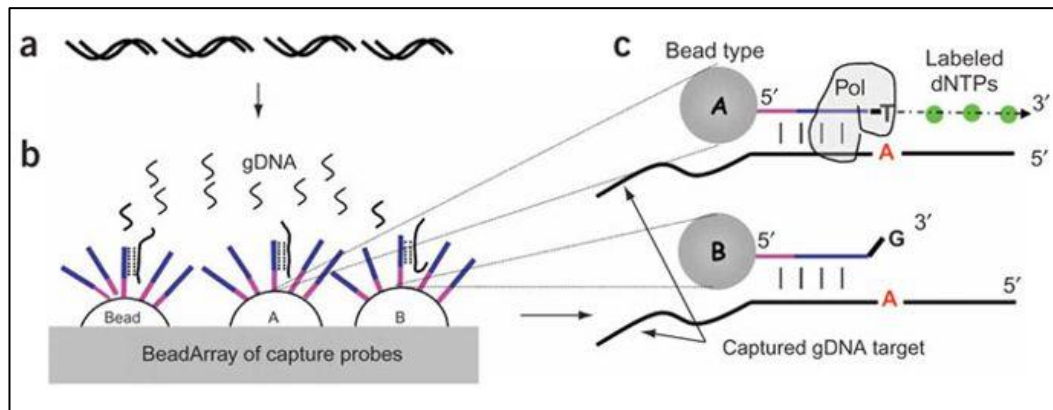


Abbildung 16: Funktionsweise BeadChip (Quelle: GUNDERSON et al. (2005))

- (a) Amplifikation des gesamten Genoms
- (b) Hybridisierung der Amplifikationsprodukte an spezifische und empfindliche Oligonukleotidsonden
- (c) Allelspezifische Primer-Verlängerungsreaktion zur Auswertung der erfassten SNPs. Für einen bestimmten SNP werden zwei verschiedene allelspezifische Bead-Typen verwendet, deren Fängersequenz abgesehen von einer Base am 3'-terminalen Ende gleich ist. Diese Base ist so gewählt, dass die Sonde auf einem Bead-Typen mit Allel A, und die auf dem anderen Bead-Typen mit Allel B zusammenpasst. Eine Verlängerung mit biotinmarkierten Nukleotiden durch die Polymerase erfolgt nur am gepaarten 3'-Ende. Durch empfindliche Erkennung der Verlängerung und Signalverstärkung werden die vorliegenden SNPs identifiziert.

Als Referenzgenom bei den folgenden Analysen und für den Abgleich der Positionen der genotypisierten SNPs diente *Oar_v4.0*.

Als Qualitätskontrolle für die Marker wurden folgende Kriterien geprüft:

- Der SNP konnte bei mehr als 5 % der Tiere nicht erfolgreich genotypisiert werden
- Der SNP führte zu häufigen Konflikten bezüglich der Abstammung verwandter Tiere
- Der SNP konnte im Referenzgenom nicht lokalisiert werden
- Der SNP hatte eine „minor allele frequency“ (MAF) von weniger als

2,5 %

- Der SNP befand sich auf einem Geschlechtschromosom, da sich die Analysen ausschließlich auf Autosomen bezogen

Alle Marker, für die mindestens eines dieser Kriterien zutreffend war, wurden ausgeschlossen.

Daraufhin verblieben 45.009 Marker im Markerset, die bei den Analysen berücksichtigt wurden.

3.2.2.4.2 Haplotypisierung und Imputation

Eine Abfolge von Allelen, die sich auf einem Chromosom befinden und von einem Elternteil vererbt werden, wird als Haplotyp bezeichnet (BROWNING, 2008). Der Diployp eines Individuums entsteht durch die Kombination zweier solcher Haplotypen während der sexuellen Fortpflanzung (GELDERMANN, 2005).

Da für die Analysen in dieser Arbeit Haplotypen benötigt wurden, wurde die Software *BEAGLE Version 5.0* (BROWNING et al., 2018) verwendet. Diese leitete mit einem *Hidden Markov Modell (HMM)* die wahrscheinlichsten Haplotypen-Paare für die jeweiligen Genotypen aus den maternalen und paternalen Allelen ab (*Phasing*) (BROWNING & BROWNING, 2007). In diesem Modell wurde ein zugrundeliegender verborgener oder unbeobachteter Zustand aus den beobachteten Daten abgeleitet. Die beobachteten Daten waren die beobachteten, nicht aufgeteilten Genotypen, während der verborgene Zustand die abgeleiteten maternalen und paternalen Haplotypen wiedergab (BROWNING, 2008).

Darüber hinaus wurden mit *BEAGLE* Genotypen an Markerpositionen abgeleitet, die in einzelnen Proben nicht genotypisiert wurden (*Imputation*) (BROWNING & BROWNING, 2009). Die fehlenden Genotypen wurden mit Hilfe von Genotypen von in der Nähe befindlichen SNPs und der bei anderen Individuen gefundenen Haplotypfrequenzen geschätzt (BROWNING & BROWNING, 2011).

Zur Verbesserung der Haplotypisierungsgenauigkeit ist es möglich, die Tierzahl durch Verwendung eines Referenzdatensatzes zu erhöhen

(BROWNING & BROWNING, 2011). Deshalb wurde die Haplotypisierung mit den Genotypen aller Schafe verschiedenster Rassen aus der hauseigenen Datenbank der AG Populationsgenomik durchgeführt, die nicht Teil des Projektes waren.

Vor der Haplotypisierung wurden in dieser Studie mithilfe von Abstammungsabfragen im Programm MICROSOFT SQL SERVER den Lämmern, soweit bekannt, bereits ihre jeweiligen Väter zugeordnet.

3.2.2.4.3 Unified additive relationships (UARs)

Zur Korrektur der Verwandtschaftsbeziehungen wurden genomweit vereinheitlichte Verwandtschaftsbeziehungen (*unified additive relationships, UARs*) für alle Tiere geschätzt (POWELL et al., 2010). Dies ist erforderlich, um falsch positive Ergebnisse aufgrund unbekannter Verwandtschaftsverhältnisse, die zu LD zwischen nicht gekoppelten Loci und damit zu falsch positiven Assoziationen führen können, auszuschließen. Wenn beispielsweise ein Vorfahre seltene Allele an zwei nicht gekoppelten Loci trägt, ist die Wahrscheinlichkeit höher, dass seine Nachkommen beide seltenen Allele tragen, als bei unverwandten Tieren (GODDARD & HAYES, 2009).

Identity by descent (IBD) bedeutet Herkunftsgleichheit und bezieht sich auf Allele, die von einem gemeinsamen Vorfahren in einer Basispopulation stammen. *Identity by state (IBS)* hingegen bedeutet Zustandsgleichheit und beschreibt identische Allele unabhängig von einem gemeinsamen Vorfahren (POWELL et al., 2010). Zwei betrachtete Haplotypen können daher entweder übereinstimmen, weil sie von einem gemeinsamen Vorfahren stammen und keine dazwischenliegende Rekombination stattgefunden hat, oder sie sind identisch, obwohl es keinen gemeinsamen Vorfahren gibt (HAYES et al., 2003).

Die IBD-Matrizen wurden mit dem R-Paket „*snpReady*“ genomweit jeweils ohne das betreffende Chromosom berechnet. Die genomweiten UARs wurden zwischen allen Tieren geschätzt und in einer Matrix zusammengestellt. Aus dieser Matrix wurde eine inverse Matrix gebildet und in die Varianzkomponentenanalyse einbezogen, um auf

Verwandtschaftsbeziehungen und eine mögliche genetische Stratifikation innerhalb der Population zu korrigieren.

3.2.2.4.4 Locus IBD und Diplotypen-Verwandtschaftsmatrix

Die Schätzung der *Locus IBD* (*LocIBD*) erfolgte nach der Methode von MEUWISSEN und GODDARD (2001) unter Verwendung von 40-SNP Gleitfenstern, welche SNP für SNP über das Genom bewegt wurden. Mit diesem Verfahren wurden die IBD-Wahrscheinlichkeiten an jeweils der Fenstermitte, d. h. zwischen SNP 20 und 21, unter Verwendung von Daten von Markerhaplotypen, die diese Position flankieren, vorhergesagt. Dafür wurden Haplotypenpaare zweier Individuen betrachtet und anhand ihrer Markerallele, Rekombinationswahrscheinlichkeiten ($1 \text{ Mb} = 1 \text{ cM}$) und Allelfrequenzen die Wahrscheinlichkeit berechnet, dass ein unbeobachteter Locus an dieser Stelle IBD ist. Da jedes Individuum diploid ist, d. h. einen paternalen und einen maternalen Haplotypen trägt (LEE & VAN DER WERF, 2006), entstanden pro Tierpaar die folgenden vier *LocIBD*-Werte: die *LocIBD*-IBD zwischen paternal-paternalen (pp), paternal-maternalen (pm), maternal-paternalen (mp) und maternal-maternalen (mm) Haplotypenkombinationen der beiden Tiere.

Nach der Methode für additive-genetische Verwandtschaftsmatrizen (*additive genotype relationship matrices*, G_{RM}) nach LEE und VAN DER WERF (2006) wurde anschließend die *LocIBD*-Matrix in eine Diplotypen-Verwandtschafts-Matrix (*diplotype relationship matrix*, D_{RM}) umgewandelt. Dies erfolgt durch Addition der vier *LocIBDs* (pp + pm + mp + mm) und Division des Ergebnisses durch 2 (LEE & VAN DER WERF, 2006).

3.2.2.4.5 Varianzkomponentenanalyse

Die anschließende Varianzkomponentenanalyse wurde in Anlehnung an die Methode von MEUWISSEN et al. (2002) durchgeführt. Dabei flossen in die cLDLA sowohl Kopplungsinformationen, die durch die verwendeten Pedigreedaten bei der Haplotypisierung berücksichtigt wurden, als auch

Informationen aus Kopplungsungleichgewicht, die bei der Schätzung der LocIBD verwendet wurden, ein.

Die Varianzkomponentenanalyse wurde genomweit mit dem Programm *ASREML* (GILMOUR et al., 2009) durchgeführt, das jeweils am Mittelpunkt des 40 SNP Gleitfensters den Einfluss eines möglichen QTL auf den Phänotyp des untersuchten Merkmals schätzt. Dabei wurde folgendes gemischtes lineares Modell verwendet:

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{Z}_1\mathbf{u} + \mathbf{Z}_2\mathbf{q} + \mathbf{e}$$

mit

\mathbf{y} = Vektor des Phänotyps des untersuchten Merkmals

$\boldsymbol{\beta}$ = Vektor der fixen Effekte

\mathbf{u} = Vektor der zufällig polygenen Effekte

\mathbf{q} = Vektor der zufällig additiv-genetischen QTL-Effekte

\mathbf{e} = Vektor der zufälligen Resteffekte

$\mathbf{X}, \mathbf{Z}_1, \mathbf{Z}_2$ = Designmatrizen

Der Vektor \mathbf{y} stellte in dieser Kartierung die gemessene SL (in cm) dar. Im Vektor $\boldsymbol{\beta}$ sind die fixen Effekte KG (in kg), WH (in cm), beide standardisiert und zentriert, das Geschlecht (männlich, weiblich) und die Wurfgröße (Einling, Zwilling) sowie der allgemeine Mittelwert μ enthalten.

Obwohl sich in der statistischen Auswertung der Messdaten der erhobenen Körpermerkmale das Modell mit den Parametern KG, WH und der Kombination Wurfgröße \times Geschlecht als am besten geeignet erwies, um die Schwanzlängenvariation bestmöglich zu erklären, wurden Wurfgröße und Geschlecht im Kartierungsmodell einzeln verwendet. Der Grund hierfür war, dass bei der Menge der beprobten Lämmer das Geschlecht der Geschwister nicht immer zuverlässig zugeordnet werden konnte und somit aus praktischen Gründen darauf verzichtet wurde.

Da die Wurfgrößen bei den neun im November 2018 beprobten Lämmern aufgrund der Lammung auf der Weide und fehlender Markierung nicht dokumentiert wurden, wurde die Wurfgröße bei diesen Tieren für die Kartierung auf Basis der restlichen erhobenen Körpermerkmale abgeleitet.

Um die Arbeitsabläufe auf dem Betrieb nicht zu stören, konnte der nach Auswertung der Daten als optimal identifizierte Messzeitpunkt ebenfalls nicht in allen Fällen eingehalten werden, so dass auch jüngere und ältere Lämmer beprobt wurden und in die Kartierung mit einfließen.

Für Vektor \mathbf{u} , der die zufälligen polygenen Effekte enthält, Vektor \mathbf{q} mit den zufällig additiv-genetischen QTL-Effekten, und Vektor \mathbf{e} , der die zufälligen Resteffekte angibt, wird angenommen, dass sie nicht miteinander korrelieren und eine Normalverteilung mit Mittelwert 0 und Varianz $\mathbf{G}_{6_u}^2$ bzw. $\mathbf{D}_{\mathbf{RMp}6_q^2}$ bzw. $\mathbf{I}_{6_e^2}$ vorliegt. Es gilt also $\mathbf{q} \sim N(0, \mathbf{D}_{\mathbf{RMp}6_q^2})$ bzw. $\mathbf{e} \sim N(0, \mathbf{I}_{6_e^2})$. Dabei stellt \mathbf{G} die Matrix der genomweiten IBD-Wahrscheinlichkeiten, $\mathbf{D}_{\mathbf{RMp}}$ die Diplotypen-Verwandtschaftsmatrix an Position p eines vermeintlichen QTL und \mathbf{I} eine Identitätsmatrix dar.

Die Designmatrizen \mathbf{X} , \mathbf{Z}_1 und \mathbf{Z}_2 verknüpfen die beobachteten Werte mit den fixen und zufälligen Effekten.

Die additiv-genetische Verwandtschaft zwischen Tier i und j an einer vermeintlichen QTL Position, $[\mathbf{D}_{\mathbf{RM}}]_{ij}$, entspricht in der Fenstermitte der Hälfte der IBD Wahrscheinlichkeiten zwischen den vier Haplotypen der beiden Tiere. Dabei werden für jedes einzelne Tierpaar und jeden einzelnen Locus im Genom 20 SNPs vor und 20 SNPs nach dem Locus (d. h. dem QTL) verwendet. Dieses sogenannte SNP Gleitfenster hatte in der vorliegenden Kartierungsanalyse also eine Größe von 40 SNP.

3.2.2.4.6 Likelihood Ratio Teststatistik

Die mit ASREML berechneten Wahrscheinlichkeiten wurden im Anschluss in einer *Likelihood Ratio Teststatistik (LRT)* verwendet. Diese vergleicht zwei Modelle, um zu untersuchen, ob das komplexere Modell die gegebenen Daten besser erklärt als das einfachere (FROMMLET et al., 2016). In diesem Fall wurden die Wahrscheinlichkeiten sowohl für ein

Modell mit als auch ein Modell ohne QTL-Effekte am Fenstermittelpunkt verglichen, d. h. ein Modell mit dem Ausdruck Z_2q und ohne Z_2q .

Die LRT-Werte wurden anhand folgender Formel berechnet:

$$LRT = -2 \times (\log \text{likelihood} (L_0) - \log \text{likelihood} (L_1))$$

Dabei war L_0 ein Modell mit fixen und polygenen Effekten und L_1 ein Modell, welches zusätzlich QTL-Effekte enthält. Der LRT-Wert folgt einer X^2 -Verteilung mit einem Freiheitsgrad (HEUVEN et al., 2005).

Für die grafische Darstellung der LRT-Werte wurde MICROSOFT POWER POINT eingesetzt, hier stellten die Loci mit den höchsten LRT-Werten die wahrscheinlichsten Positionen für QTLs dar.

3.2.2.4.7 Signifikanzschwelle und Konfidenzintervall

Um signifikante Ergebnisse zu erhalten, wurde ein P -Wert von 0,05 gewählt und im Anschluss die Signifikanzschwelle bestimmt. Dafür wurde eine Korrektur nach Bonferroni durchgeführt, um den vorliegenden Mehrfachtest zu berücksichtigen (BLAND & ALTMAN, 1995). Dies ist nötig, da durch mehrfaches Testen die Wahrscheinlichkeit eines Fehlers der ersten Art erhöht ist und somit die Nullhypothese fälschlicherweise abgelehnt werden könnte (BICKEBÖLLER & FISCHER, 2007).

Es lagen 1099,875 $((45009 - 26 \times 39) / 40 = 1099,875)$ unabhängige, d. h. nicht überlappende getestete SNP-Abschnitte (Fenster) vor. Daraus ergaben sich ein korrigierter P -Wert von $< 4,546 \times 10^{-5}$ $(0,05 / 1099,875 = 4,546 \times 10^{-5})$ und eine entsprechende genomweite Signifikanzschwelle bei einem LRT-Wert von 16,629.

Auf dieselbe Weise wurde für jedes Chromosom einzeln eine chromosomenweite Signifikanzschwelle berechnet. Dafür wurden zunächst wieder die unabhängigen Fenster des jeweiligen Chromosoms berechnet $((\text{informative Marker des jeweiligen Chromosoms} - 39) / 40)$. Daraus ergaben sich wiederum korrigierte P -Werte $(0,05 / (\text{Anzahl$

unabhängige Fenster des jeweiligen Chromosoms)), wodurch im Anschluss die entsprechenden chromosomenweiten Signifikanzschwellen als LRT-Wert berechnet werden konnten.

Zur Berechnung des Konfidenzintervalls für das Maximum der LRT-Kurve wurde das *2-LOD (logarithm of the odds)* Kriterium angewendet (VAN OOIJEN, 1992). Dabei wurde das Intervall in beide Richtungen um den maximalen LRT-Wert der Kurve (LRT_{\max}) konstruiert. Da 1 LOD einer LRT-Differenz von 4,605 entspricht (VISSCHER & GODDARD, 2004), liegt die gesuchte kausale Variante mit einer Sicherheit von 99 % in dem Bereich aus der Differenz zwischen LRT_{\max} und 9,210, dem 2-LOD-Intervall (BERGER et al., 2014).

Anschließend wurden die berechneten Konfidenzintervalle der LRT_{\max} in der *Ensembl* Datenbank (CUNNINGHAM et al., 2018) betrachtet, um einen Überblick über mögliche Kandidatengene zu erhalten. Da die *Ensembl* Datenbank auf der Karte *Oar_v3.1* beruht, wurden die in dieser Arbeit auf *Oar_v4.0* gefundenen Positionen für den Vergleich mit dem Referenzgenom umgerechnet. Dafür wurde der *NCBI „Genome Remapping Service“* (NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, 2019) verwendet.

4 Ergebnisse

4.1 Messreihe

4.1.1 Entwicklung der Körpermerkmale

4.1.1.1 Schwanzlänge

Die Schwanzlänge am ersten Lebenstag variierte zwischen 16,40 und 27,70 cm mit einem Mittelwert von 22,00 cm, einer Standardabweichung (SD) von 2,23 cm und einem Variationskoeffizienten (CV) von 10,12 %. Beim Absetzen variierte die Schwanzlänge von 25,00 cm bis 41,40 cm mit einem Durchschnitt (\pm SD, CV) von 33,72 cm (\pm 3,55 cm, 10,53 %) (Tab. 11).

Tabelle 11: Schwanzlänge in cm im Vergleich zwischen Geschlecht und Wurfgröße

Innerhalb der einzelnen Spalten wurde jeweils zwischen dem Zeitpunkt der Geburt (Geb.) und dem Zeitpunkt des Absetzens (Abs.) unterschieden.

	Alle Lämmer (n = 88)		Männliche Lämmer (n = 37)		Weibliche Lämmer (n = 51)		Einlinge (n = 21)		Zwillinge (n = 67)	
	Geb.	Abs.	Geb.	Abs.	Geb.	Abs.	Geb.	Abs.	Geb.	Abs.
Min	16,40	25,00	16,40	27,00	18,10	25,00	16,40	27,70	18,10	25,00
Max	27,70	41,40	26,40	40,70	27,70	41,40	27,70	41,30	26,50	41,40
Mittel	22,00	33,72	21,58	33,33	22,31	34,01	22,76	35,27	21,77	33,24
SD	2,23	3,55	2,30	3,36	2,14	3,69	2,68	3,35	2,03	3,49
CV (in %)	10,12	10,53	10,66	10,07	9,60	10,85	11,77	9,51	9,33	10,51
Ø W-Rate¹	0,21		0,21		0,21		0,22		0,20	

¹ Durchschnittliche tägliche Wachstumsrate

Vergleicht man die anfängliche SL von männlichen und weiblichen Tieren, fällt auf, dass weibliche Lämmer (n = 51) im Durchschnitt 0,73 cm längere Schwänze besaßen als männliche Lämmer (n = 37) (Tab. 11). Jedoch war dieser Unterschied nicht signifikant im t-Test ($P > 0,05$). Beim Vergleich

von Einlingen und Zwillingen war die durchschnittliche SL am ersten Lebenstag bei Einlingen ($n = 21$) um 0,99 cm höher als bei Zwillingen ($n = 67$) (Tab. 11), wiederum ohne Signifikanz im t-Test ($P > 0,05$).

Bei gemeinsamer Betrachtung von Wurfgröße und Geschlecht in einer ANOVA mit fünf Gruppen (männliche Einlinge, weibliche Einlinge, männliche Zwillinge, weibliche Zwillinge, gemischtgeschlechtliche Zwillinge) gab es einen signifikanten Unterschied ($P < 0,05$) zwischen den fünf Gruppen, wobei die weiblichen Einlinge die längsten Schwänze aufwiesen, gefolgt von weiblichen Zwillingspärchen, gemischtgeschlechtlichen Zwillingspärchen, männlichen Einlingen und männlichen Zwillingspärchen (Tab. 12).

Tabelle 12: Schwanzlänge in cm unter Berücksichtigung von Wurfgröße × Geschlecht

Für den Zeitpunkt der Geburt (Geb.) und des Absetzens (Abs.) wurden minimale Werte durch Unterstreichung und maximale Werte durch Fettschrift hervorgehoben. Für die durchschnittliche tägliche Wachstumsrate (\emptyset W-Rate) wurden Minimum und Maximum auf dieselbe Weise hervorgehoben.

	Männliche Einlinge (n = 9)		Weibliche Einlinge (n = 12)		Männliche Zwillinge (n = 11)		Weibliche Zwillinge (n = 21)		Gemischte Zwillinge (n = 35)	
	Geb.	Abs.	Geb.	Abs.	Geb.	Abs.	Geb.	Abs.	Geb.	Abs.
Min	<u>16,40</u>	27,70	20,10	32,10	18,60	29,00	18,10	<u>25,00</u>	19,00	26,80
Max	25,00	40,70	27,70	41,30	23,00	36,50	25,50	41,40	26,50	40,00
Mittel	21,80	34,46	23,48	35,88	<u>20,45</u>	<u>32,50</u>	22,10	34,42	21,98	32,76
SD	2,90	4,10	2,37	2,70	1,45	2,59	2,14	4,11	2,00	3,24
CV (in %)	13,30	11,90	10,09	7,53	7,09	7,97	9,68	11,94	9,10	9,89
\emptyset W-Rate	0,23		0,22		0,21		0,22		<u>0,19</u>	

Beim Absetzen war die durchschnittliche SL der weiblichen Lämmer weiterhin um 0,68 cm höher als die der männlichen (Tab. 11), jedoch wiederum ohne Signifikanz im t-Test ($P > 0,05$). Einlinge besaßen beim Absetzen ebenfalls durchschnittlich um 2,03 cm längere Schwänze als Zwillinge (Tab. 11) und dieser Unterschied war zu diesem Zeitpunkt

signifikant im t-Test ($P < 0,05$).

In einer ANOVA war der Unterschied in der SL zwischen den fünf Wurfgröße \times Geschlecht-Gruppen wiederum signifikant ($P < 0,01$). Weibliche Einlinge besaßen die längsten Schwänze, gefolgt von männlichen, weiblichen Zwillingen, gemischtgeschlechtlichen Zwillingen und männlichen Zwillingen (Tab. 12).

Die durchschnittliche Wachstumsrate betrug über den Zeitraum von acht Wochen betrachtet 0,21 cm ($\pm 0,04$ cm, 16,97 %) pro Tag. Die höchste Wachstumsrate lag mit 0,29 cm ($\pm 0,13$ cm, 43,28 %) pro Tag in der ersten Lebenswoche vor, die geringste Wachstumsrate mit 0,16 cm ($\pm 0,07$ cm, 43,60 %) pro Tag in der achten Lebenswoche (Abb. 17).

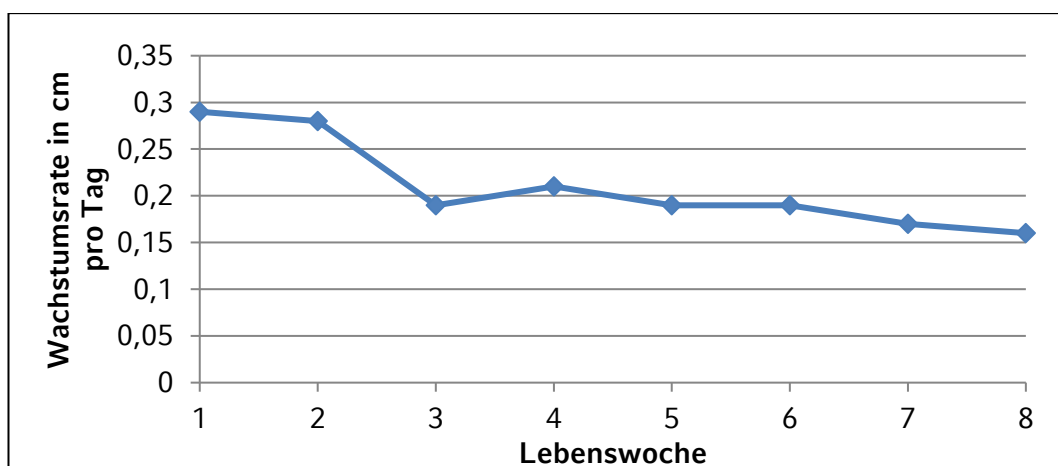


Abbildung 17: Durchschnittliche Wachstumsrate der Schwanzlänge in cm pro Tag

Die Reliabilität der Wiederholungsmessung war bei der Messung der SL hoch, mit einem typischen Fehler, auch Standardfehler genannt, (HOPKINS, 2000) von 0,21 cm und einem Variationskoeffizienten von 0,72 %.

Vergleicht man die Entwicklung von SL und WH, konnte man ein allometrisches Wachstumsmuster beobachten, das sich durch die Gleichung $SL_i = -5,323 + 0,677 \times WH_i + e_i$ (Abb. 18) beschreiben ließ, wobei SL_i , WH_i und e_i die Schwanzlänge, die Widerristhöhe und der zufällige Fehler für Lamm i sind.

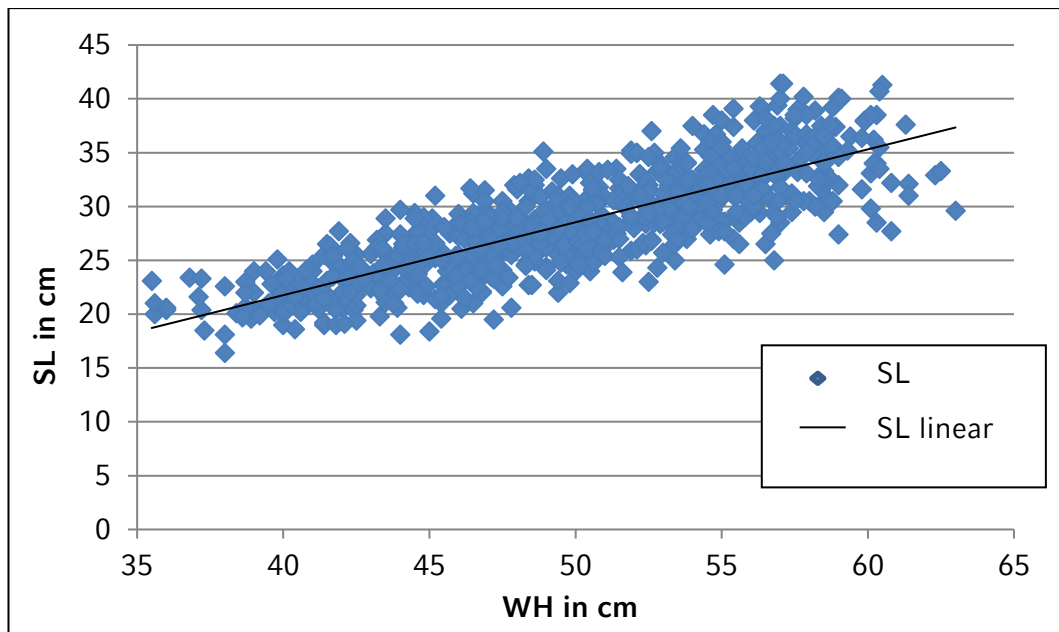


Abbildung 18: Entwicklung von Schwanzlänge (SL) und Widerristhöhe (WH) in cm

4.1.1.2 Körpergewicht

Das Geburtsgewicht variierte von 3,50 kg bis 7,50 kg mit einem Mittelwert von 5,53 kg ($\pm 0,81$ kg, 14,68 %) (Tab. 13).

Aufgrund eines technischen Defektes beim Wiegen der acht Wochen alten Lämmer der zweiten Messgruppe sind für diese keine Daten über das Körpergewicht beim Absetzen verfügbar. In der siebten Messwoche lag das Körpergewicht über beide Messgruppen betrachtet zwischen 13,90 und 29,40 kg mit einem Durchschnitt von 21,13 kg ($\pm 3,14$ kg, 14,84 %) (Tab. 13).

Tabelle 13: Körpergewicht in kg im Vergleich zwischen Geschlecht und Wurfgröße

Innerhalb der einzelnen Spalten wurde jeweils zwischen dem Zeitpunkt der Geburt (Geb.) und einem Alter von 7 Wochen (7 Wo.) unterschieden.

	Alle (n = 88)		Männliche (n = 37)		Weibliche (n = 51)		Einlinge (n = 21)		Zwillinge (n = 67)	
	Geb.	7 Wo.	Geb.	7 Wo.	Geb.	7 Wo.	Geb.	7 Wo.	Geb.	7 Wo.
Min	3,50	13,90	3,50	15,50	3,80	13,90	4,15	16,70	3,50	13,90
Max	7,50	29,40	7,50	29,40	7,00	26,40	7,40	29,40	7,50	24,80
Mittel	5,53	21,13	5,66	21,88	5,44	20,59	5,90	23,90	5,41	20,26
SD	0,81	3,14	0,93	3,28	0,71	2,94	0,91	3,11	0,75	2,61
CV (in %)	14,68	14,84	16,40	15,00	13,09	14,27	15,49	13,03	13,79	12,89
Ø W- Rate¹	0,32		0,33		0,31		0,37		0,30	

¹ Durchschnittliche tägliche Gewichtszunahme

Männliche Lämmer waren bei Geburt im Durchschnitt um 0,22 kg schwerer als weibliche Lämmer (*Tab. 13*), jedoch ohne Signifikanz im t-Test ($P > 0,05$). Das Geburtsgewicht für Einlinge war im t-Test mit durchschnittlich 0,49 kg signifikant höher ($P < 0,05$) als für Zwillinge (*Tab. 13*).

Betrachtet man wiederum die fünf Gruppen in der ANOVA, waren die Unterschiede im Geburtsgewicht signifikant ($P < 0,01$) mit den männlichen Einlingen als schwerste Gruppe, gefolgt von den weiblichen Einlingen, den gemischtgeschlechtlichen Zwillingspärchen, den weiblichen Zwillingen und den männlichen Zwillingen (*Tab. 14*).

Tabelle 14: Körpergewicht in kg unter Berücksichtigung von Wurfgröße × Geschlecht

Für den Zeitpunkt der Geburt (Geb.) und des Absetzens (Abs.) wurden minimale Werte durch Unterstreichung und maximale Werte durch Fettschrift hervorgehoben. Für die durchschnittliche tägliche Gewichtszunahme (Ø W-Rate) wurden Minimum und Maximum auf dieselbe Weise hervorgehoben.

	Männliche Einlinge (n = 9)		Weibliche Einlinge (n = 12)		Männliche Zwillinge (n = 11)		Weibliche Zwillinge (n = 21)		Gemischte Zwillinge (n = 35)	
	Geb.	7 Wo.	Geb.	7 Wo.	Geb.	7 Wo.	Geb.	7 Wo.	Geb.	7 Wo.
Min	4,15	16,70	4,90	20,10	<u>3,50</u>	15,50	3,80	14,10	4,20	<u>13,90</u>
Max	7,40	29,40	7,00	26,40	6,25	24,80	6,70	23,10	7,50	24,30
Mittel	5,91	24,83	5,90	23,19	<u>4,94</u>	20,25	5,19	<u>19,99</u>	5,70	20,43
SD	1,14	4,00	0,76	2,18	0,66	2,87	0,67	2,62	0,71	2,59
CV (in %)	19,29	16,11	12,88	9,40	13,36	14,17	12,91	13,10	12,46	12,68
Ø W- Rate	0,38		0,35		0,31		<u>0,30</u>		<u>0,30</u>	

Das durchschnittliche KG für männliche Lämmer war in der siebten Lebenswoche weiterhin um 1,30 kg höher als für weibliche Lämmer (Tab. 13), was wiederum im t-Test nicht signifikant war ($P > 0,05$). Einlinge waren zu diesem Zeitpunkt im Durchschnitt um 3,64 kg hoch signifikant ($P < 0,001$) schwerer als Zwillinge (Tab. 13).

In der univariaten Varianzanalyse waren die Unterschiede im KG in der siebten Lebenswoche hoch signifikant ($P < 0,001$). Dabei waren männliche Einlinge die schwersten Lämmer, gefolgt von weiblichen Einlingen, gemischtgeschlechtlichen Zwillingen, männlichen Zwillingen und weiblichen Zwillingen (Tab. 14).

In der ersten Messgruppe betrug die durchschnittliche Zunahme über den Zeitraum der acht Messwochen betrachtet 312 g pro Tag (± 53 g, 16,91 %), 332 g (± 62 g, 18,84 %) in der Gruppe der Einlinge und 309 g (± 52 g, 16,73 %) in der Zwillingsgruppe. Aufgrund des technischen Fehlers in der zweiten Messgruppe waren dort nur Tageszunahmen bis zur siebten Lebenswoche verfügbar. So betrug in dieser Gruppe die durchschnittliche tägliche Zunahme bis zur siebten Woche 319 g (± 60 g, 18,95 %) (erste Messgruppe über sieben Wochen betrachtet: 311 g ± 49 g,

15,86 %), 378 g (± 44 g, 11,72 %) für Einlinge (erste Gruppe: 326 g ± 69 g, 21,04 %) und 287 g (± 40 g, 14,05 %) für Zwillinge (erste Gruppe: 309 g ± 47 g, 15,25 %). Es wurden daraufhin beide Gruppen zu einem Tierset kombiniert und es ergab sich dann für den Zeitraum von sieben Wochen eine durchschnittliche Tageszunahme von 315 g (± 55 g, 17,49 %), 366 g (± 54 g, 14,81 %) bei den Einlingen und 299 g (± 45 g, 15,16 %) bei den Zwillingen.

Nachdem die Tageszunahmen in den ersten drei Wochen stetig fielen, stiegen sie ab der vierten Woche wieder an, mit Ausnahme eines Einbruchs in der sechsten Lebenswoche bei den Lämmern der zweiten Messgruppe (Abb. 19).

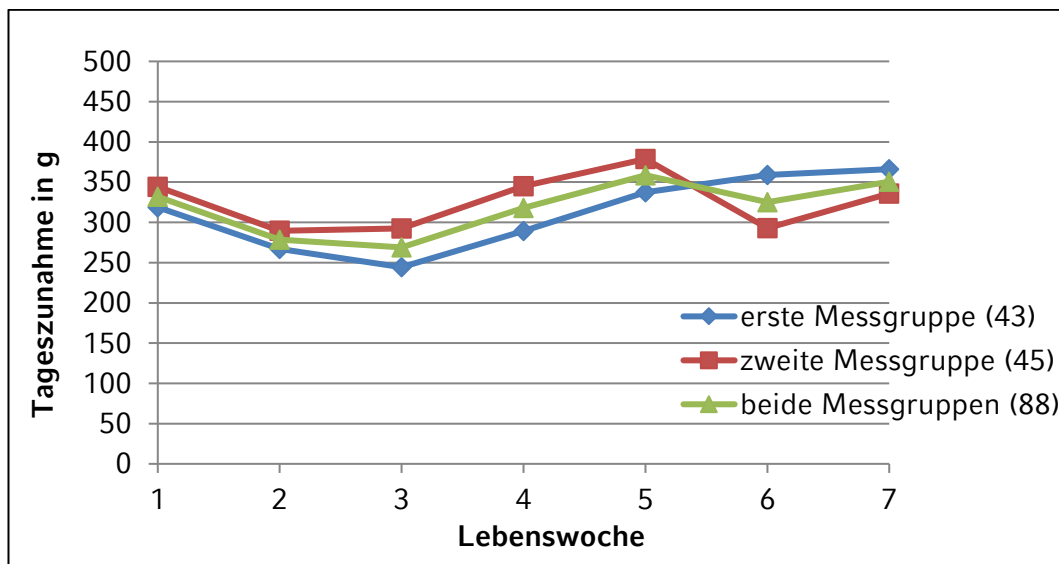


Abbildung 19: Tageszunahmen in g

Teilt man die Wachstumskurven getrennt nach den Geschlechtern auf, ergaben sich sehr ähnliche Kurven, abgesehen von einem stärkeren Abfall der Tageszunahmen bei den weiblichen Lämmern in der sechsten Lebenswoche (Abb. 20), was hauptsächlich durch die weiblichen Lämmer aus der zweiten Gruppe verursacht wurde.

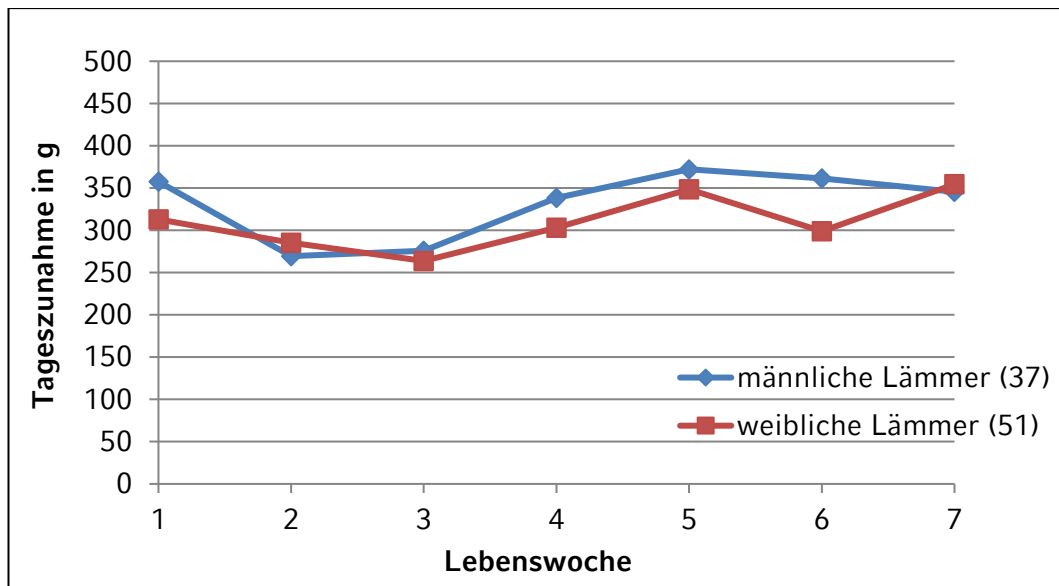


Abbildung 20: Tageszunahmen in g in Abhängigkeit vom Geschlecht

Vergleicht man die Tageszunahmen der Einlinge und Zwillinge, fällt auf, dass die Einlinge in den ersten Wochen nach der Geburt höhere Werte erreichten als Zwillinge. Nach einem Abfall in der Wachstumskurve der Einlinge und einem Anstieg der Wachstumskurve der Zwillinge ergaben sich jedoch in der siebten Lebenswoche in etwa dieselben Tageszunahmen für beide Wurfgrößen (Abb. 21).

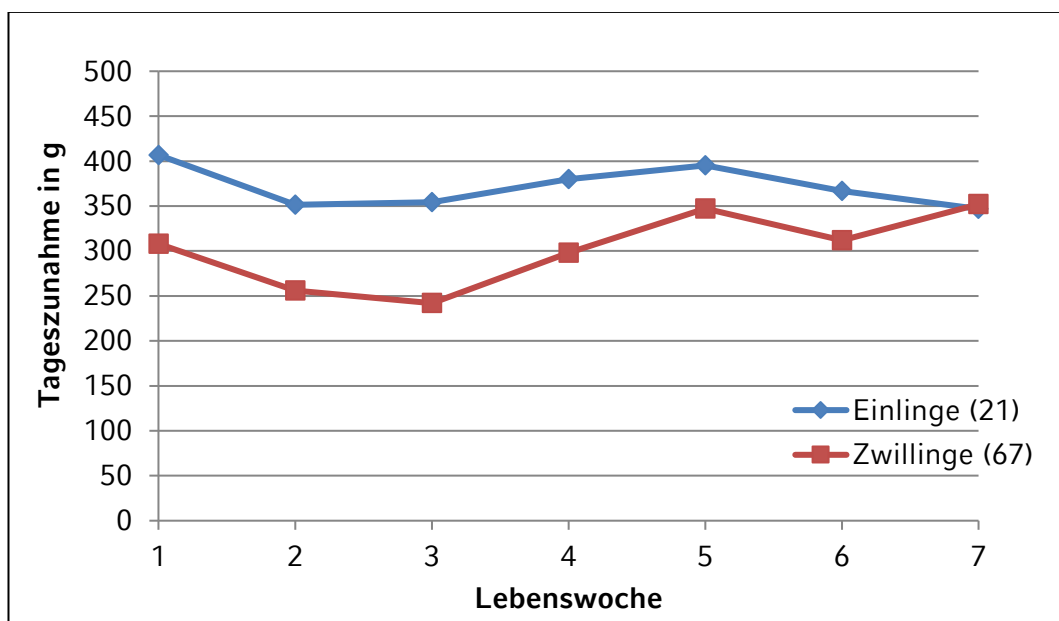


Abbildung 21: Tageszunahmen in g in Abhängigkeit von der Wurfgröße

4.1.1.3 Widerristhöhe

Die anfängliche WH variierte von 35,50 bis 45,50 cm und hatte ihren Mittelwert bei 40,55 cm ($\pm 2,18$ cm, 5,39 %). Beim Absetzen wurden Höhen von 52,20 bis 63,00 cm erreicht bei einem Durchschnitt von 57,58 cm ($\pm 2,26$ cm, 3,93 %) (Tab. 15).

Tabelle 15: Widerristhöhe in cm im Vergleich zwischen Geschlecht und Wurfgröße

Innerhalb der einzelnen Spalten wurde jeweils zwischen dem Zeitpunkt der Geburt (Geb.) und dem Zeitpunkt des Absetzens (Abs.) unterschieden.

	Alle Lämmer (n = 88)		Männliche Lämmer (n = 37)		Weibliche Lämmer (n = 51)		Einlinge (n = 21)		Zwillinge (n = 67)	
	Geb.	Abs.	Geb.	Abs.	Geb.	Abs.	Geb.	Abs.	Geb.	Abs.
Min	35,50	52,20	35,60	53,50	35,50	52,20	35,60	55,10	35,50	52,20
Max	45,50	63,00	45,50	63,00	44,40	61,40	45,00	63,00	45,50	62,30
Mittel	40,55	57,58	41,16	58,09	40,12	57,21	41,46	59,10	40,27	57,11
SD	2,18	2,26	2,41	2,43	1,91	2,08	2,32	2,06	2,08	2,12
CV (in %)	5,39	3,93	5,86	4,18	4,76	3,64	5,59	3,49	5,16	3,72
W- Rate¹	0,30		0,30		0,30		0,31		0,30	

¹ Durchschnittliche tägliche Wachstumsrate

Beim Vergleich der WH in Abhängigkeit vom Geschlecht war die anfängliche durchschnittliche Widerristhöhe bei männlichen Tieren um 1,04 cm größer als bei weiblichen Tieren (Tab. 15). Dieser Unterschied war signifikant im t-Test ($P < 0,05$). Beim Absetzen waren die männlichen Lämmer auch noch im Durchschnitt um 1,88 cm größer als ihre weiblichen Altersgenossen, jedoch ohne Signifikanz ($P > 0,05$) (Tab. 15).

Vergleicht man die Widerristhöhe in Bezug zur Wurfgröße, war die WH am ersten Lebenstag bei den Einlingen um durchschnittlich 1,19 cm signifikant ($P < 0,05$) höher als bei den Zwillingen. Im Absetzalter waren die Einlinge weiterhin im Durchschnitt um 1,99 cm größer als die Zwillinge, und dieser Unterschied war hoch signifikant im t-Test ($P < 0,001$) (Tab. 15).

Betrachtet man die WH bezüglich der Kombination aus Wurfgröße \times Geschlecht, waren die Unterschiede in der ANOVA zum Geburtszeitpunkt signifikant ($P < 0,05$). Dabei waren männliche Einlinge die größten Lämmer, gefolgt von weiblichen Einlingen, gemischtgeschlechtlichen Zwillingen, männlichen Zwillingen und weiblichen Zwillingen. Diese Unterschiede waren auch beim Absetzen noch signifikant ($P < 0,01$), wobei männliche Einlinge ebenso die höchsten Werte erzielten, weiterhin gefolgt von weiblichen Einlingen, gemischtgeschlechtlichen Zwillingen, weiblichen Zwillingen und männlichen Zwillingen (Tab. 16).

Tabelle 16: Widerristhöhe in cm unter Berücksichtigung von Wurfgröße \times Geschlecht

Für den Zeitpunkt der Geburt (Geb.) und des Absetzens (Abs.) wurden minimale Werte durch Unterstreichung und maximale Werte durch Fettschrift hervorgehoben. Für die durchschnittliche tägliche Gewichtszunahme (\emptyset W-Rate) wurden Minimum und Maximum auf dieselbe Weise hervorgehoben.

	Männliche Einlinge (n = 9)		Weibliche Einlinge (n = 12)		Männliche Zwillinge (n = 11)		Weibliche Zwillinge (n = 21)		Gemischte Zwillinge (n = 35)	
	Geb.	Abs.	Geb.	Abs.	Geb.	Abs.	Geb.	Abs.	Geb.	Abs.
Min	35,60	55,10	38,40	55,80	35,60	53,90	36,00	<u>52,20</u>	<u>35,50</u>	52,60
Max	45,00	63,00	44,40	60,50	42,00	58,50	42,50	59,80	45,50	62,30
Mittel	41,66	59,41	41,30	58,86	39,75	<u>56,58</u>	<u>39,57</u>	56,84	40,85	57,43
SD	3,16	2,75	1,57	1,45	1,78	1,57	1,92	1,88	2,13	2,39
CV (in %)	7,59	4,63	3,80	2,46	4,48	2,77	4,85	3,31	5,21	4,16
\emptyset W-Rate	0,32		0,31		0,30		0,30		<u>0,29</u>	

Die durchschnittliche Wachstumsrate über den Zeitraum von acht Wochen betrug 0,30 cm ($\pm 0,03$ cm, 10,71 %) pro Tag. Die höchste Wachstumsrate wurde in der ersten Lebenswoche mit 0,48 cm ($\pm 0,27$ cm, 55,00 %) erreicht und die geringste Wachstumsrate waren 0,22 cm ($\pm 0,19$ cm, 88,46 %) pro Tag in der vierten Lebenswoche, gefolgt von 0,23 cm ($\pm 0,10$ cm, 40,82 %) in der achten Lebenswoche (Abb. 22).

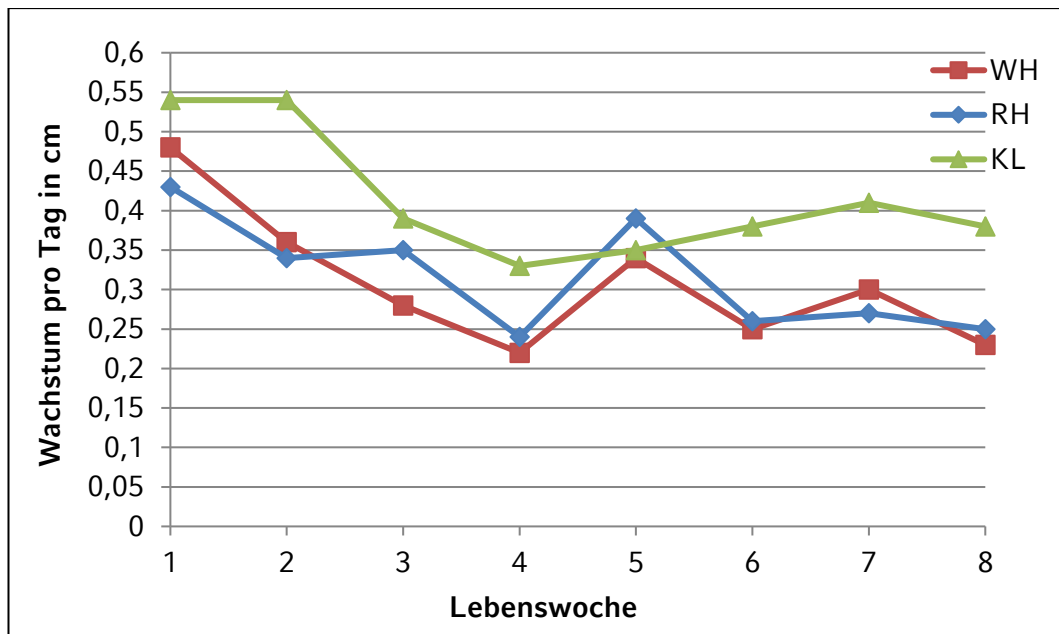


Abbildung 22: Durchschnittliche Zunahmen von Widerristhöhe (WH), Rückenlänge (RH) und Körperlänge gemessen mit einem Körmaß (KL) in cm pro Tag

Der typische Messfehler in der Wiederholungsmessung betrug für WH durchschnittlich 0,70 cm bei einem Variationskoeffizienten von 1,36 %.

4.1.1.4 Proportion Schwanzlänge/Widerristhöhe

Die Proportion SL/WH war zur Geburt bei weiblichen Lämmern durchschnittlich um 0,031 höher als bei männlichen Lämmern und dieser Unterschied war auch signifikant im t-Test ($P < 0,01$). Beim Absetzen waren die weiblichen Tiere weiterhin kleiner und besaßen weiterhin längere Schwänze, weshalb ihr Quotient aus SL und WH immer noch im Durchschnitt um 0,020 höher war als der der männlichen, jedoch war der Unterschied nicht mehr signifikant im t-Test ($P > 0,05$). Bei beiden Geschlechtern kann man einen kontinuierlichen Anstieg des SL/WH-Quotienten beobachten, bei den männlichen Lämmern jedoch auf einem niedrigeren Niveau als bei den weiblichen (Tab. 17).

Tabelle 17: Entwicklung der Proportion Schwanzlänge/Widerristhöhe in Abhängigkeit vom Geschlecht

		Wochen								
		0	1	2	3	4	5	6	7	8
Männliche Lämmer	Mittel	0,525	0,533	0,547	0,549	0,564	0,566	0,570	0,568	0,574
	SD	0,051	0,055	0,050	0,049	0,054	0,052	0,055	0,052	0,053
	CV (in %)	9,81	10,35	9,16	8,85	9,55	9,16	9,72	9,09	9,28
Weibliche Lämmer	Mittel	0,556	0,557	0,568	0,575	0,587	0,586	0,592	0,593	0,594
	SD	0,050	0,050	0,052	0,053	0,053	0,052	0,056	0,057	0,058
	CV (in %)	8,92	8,90	9,17	9,16	9,04	8,88	9,47	9,63	9,73

Betrachtet man die Proportion SL/WH in Abhängigkeit von der Wurfgröße, war der Quotient sowohl zu Beginn der Messreihe als auch beim Absetzen bei den Einlingen um 0,009 bzw. 0,015 höher als bei den Zwillingen, jedoch waren diese Unterschiede im t-Test nicht signifikant ($P > 0.05$) (Tab. 18).

Tabelle 18: Entwicklung der Proportion Schwanzlänge/Widerristhöhe in Abhängigkeit von der Wurfgröße

		Wochen								
		0	1	2	3	4	5	6	7	8
Einlinge	Mittel	0,550	0,560	0,568	0,576	0,591	0,584	0,595	0,593	0,597
	SD	0,061	0,057	0,052	0,046	0,053	0,047	0,051	0,054	0,053
	CV (in %)	11,13	10,17	9,19	7,93	8,91	8,10	8,61	9,04	8,95
Zwillinge	Mittel	0,541	0,543	0,556	0,561	0,573	0,575	0,579	0,579	0,582
	SD	0,049	0,051	0,051	0,053	0,054	0,054	0,057	0,056	0,057
	CV (in %)	9,03	9,34	9,24	9,51	9,38	9,30	9,88	9,65	9,72

Die Unterschiede bezüglich der Proportion SL/WH waren zwischen den fünf Wurfgröße \times Geschlecht-Gruppen weder zur Geburt noch beim Absetzen signifikant ($P > 0,05$) in einer ANOVA (Tab. 19).

Tabelle 19: Proportion Schwanzlänge/Widerristhöhe unter Berücksichtigung von Wurfgröße x Geschlecht

Für den Zeitpunkt der Geburt (Geb.) und des Absetzens (Abs.) wurden minimale Werte durch Unterstreichung und maximale Werte durch Fettschrift hervorgehoben.

	Männliche Einlinge (n = 9)		Weibliche Einlinge (n = 12)		Männliche Zwillinge (n = 11)		Weibliche Zwillinge (n = 21)		Gemischte Zwillinge (n = 35)	
	Geb.	Abs.	Geb.	Abs.	Geb.	Abs.	Geb.	Abs.	Geb.	Abs.
Mittel	0,524	0,580	0,568	0,610	<u>0,516</u>	0,575	0,558	0,605	0,539	<u>0,570</u>
SD	0,067	0,066	0,054	0,043	0,047	0,048	0,046	0,067	0,049	0,050
CV (in %)	12,79	11,38	9,51	7,05	9,11	8,35	8,24	11,07	9,09	8,77

4.1.1.5 Rückenhöhe

Die anfängliche RH lag zwischen 36,20 und 45,60 cm mit einem Mittelwert bei 40,26 cm ($\pm 2,20$ cm, 5,47 %). Beim Absetzen wurden Höhen zwischen 52,00 und 63,00 cm erreicht, wobei der Durchschnitt bei 57,82 cm ($\pm 2,49$ cm, 4,30 %) lag.

Die durchschnittliche Wachstumsrate betrug 0,31 cm ($\pm 0,04$ cm, 11,63 %) pro Tag über den Zeitraum von acht Wochen, mit 0,43 cm ($\pm 0,33$ cm, 77,31 %) pro Tag fand das stärkste Wachstum in der ersten Lebenswoche statt, das geringste Wachstum in der vierten Woche, mit 0,24 cm ($\pm 0,21$ cm, 89,93 %) pro Tag, gefolgt von 0,25 cm ($\pm 0,16$ cm, 62,87 %) pro Tag in der achten Lebenswoche (Abb. 22).

In den Wiederholungsmessungen ergab sich ein durchschnittlicher Standardfehler von 0,88 cm, was einem Variationskoeffizienten von 1,70 % entsprach.

4.1.1.6 Körperlänge gemessen mit einem Körmaß und mit einem Maßband

Die anfängliche KL variierte von 28,00 bis 40,00 cm mit einem Durchschnitt von 34,39 cm ($\pm 2,44$ cm, 7,10 %). Beim Absetzen mit acht Wochen wurden Werte zwischen 51,50 und 64,60 cm erreicht bei einem

Mittelwert von 57,53 cm ($\pm 2,95$ cm, 5,13 %).

Die durchschnittliche Längen-Wachstumsrate über die Messperiode hinweg lag bei 0,41 cm ($\pm 0,05$ cm, 13,10 %) pro Tag, dabei wurde das Maximum von 0,54 cm ($\pm 0,32$ cm, 59,67 % bzw. $\pm 0,27$ cm, 49,26 %) in den ersten beiden Lebenswochen erreicht und ein Minimum von 0,33 cm ($\pm 0,28$ cm, 83,58 %) in der vierten Woche (*Abb. 22*).

Über die acht Wochen betrachtet ergab sich ein Standardfehler von 1,09 cm und ein Variationskoeffizient von 2,18 % in den Wiederholungsmessungen.

Die Messung von KL_m ist stark abhängig von der Körperhaltung der Lämmer und lässt sich nur zuverlässig bestimmen, wenn die Körperlängsachse der Lämmer gerade ist. Aufgrund der schlechten Praktikabilität bei der Messung der jungen Lämmer, welche sich beim Anlegen des Maßbandes aus der geraden Haltung wanden, wurde KL_m nur in der ersten Messgruppe erhoben.

4.1.1.7 Längen von Femur, Metakarpus und Anus bis Sprunggelenk

Das Ertasten der Knochenpunkte zur Messung von FL und ML wurde aufgrund des steigenden Muskel- und Fettansatzes mit zunehmendem Alter immer schwieriger. Die Messung der AS-Länge war stark abhängig von der Streckung der Gelenke und wurde deshalb auch mit zunehmender Kraft der Lämmer immer schwieriger korrekt zu erheben. Folglich stiegen die durchschnittlichen Werte für FL, ML und AS nicht für jede Woche, sondern im Gegenteil, sie fielen zum Teil trotz ansteigenden Alters und zunehmender Größe der Lämmer. So reduzierte sich beispielsweise der durchschnittliche Wert von FL in der fünften Lebenswoche um 0,05 cm, der Durchschnitt von ML sank in der zweiten Woche um 0,1 cm und der Durchschnitt der AS-Länge fiel sogar um 0,26 cm in der vierten Lebenswoche (*Abb. 23*; gelbe Markierungen). Aufgrund der schlechten Reproduzierbarkeit des Messvorgangs wurde beschlossen, die drei Körpermaße FL, ML und AS in der zweiten Messgruppe nicht mehr zu erfassen.

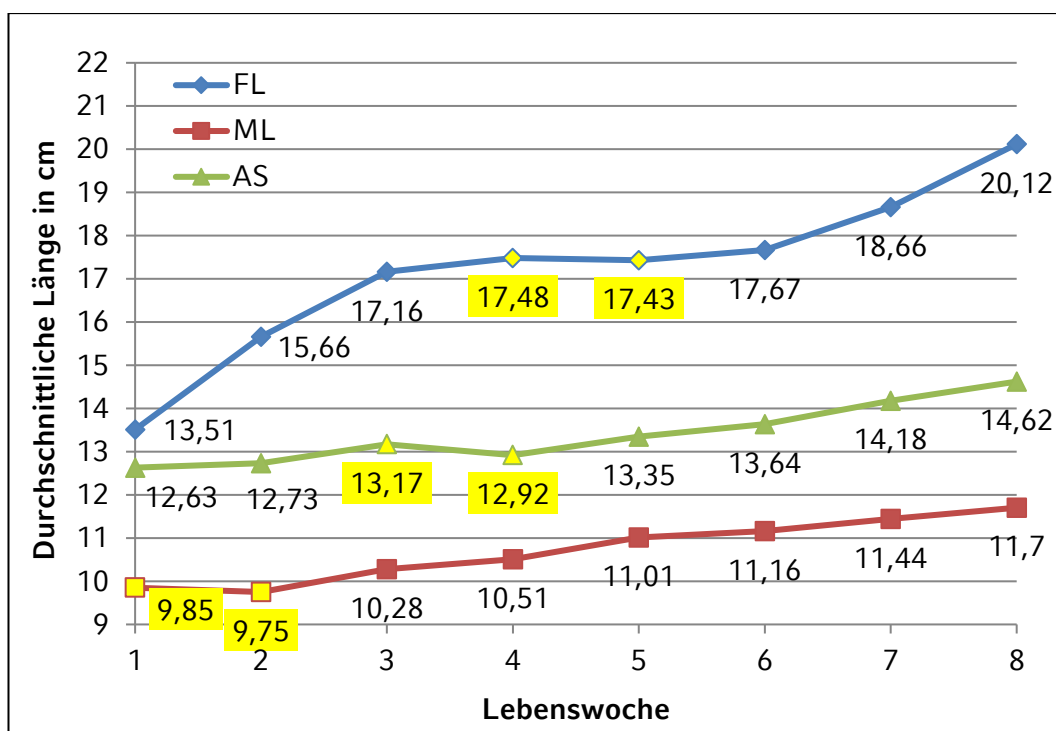


Abbildung 23: Durchschnittliche Längen von Femur (FL), Metakarpus (ML) und Anus bis Sprunggelenk(AS) in cm

4.1.1.8 Einteilung der Schwanzlänge nach OviCap

Die Einteilung der individuellen Schwanzlänge nach OviCap blieb größtenteils (75 %) während der gesamten Messperiode unverändert. Veränderungen traten nur bei 22 Lämmern auf und dies auch nur während der ersten drei Lebenswochen. Weitere neun Grenzfälle wechselten nahezu wöchentlich zwischen zwei OviCap-Stufen. Es wurde kein Lamm mit der OviCap-Stufe „kurz“ beobachtet (Tab. 20).

Tabelle 20: Anzahl der Lämmer in den verschiedenen Ovicap-Stufen

	Alter in Wochen								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
kurz	0	0	0	0	0	0	0	0	0
mittel	32	18	11	11	12	13	10	11	14
lang	56	70	77	77	76	75	78	77	74

4.1.1.9 Kupierwunde

Bei allen Lämmern mit Schwanzverletzungen ($n = 8$; 8,33 %) verheilte die Kupierwunde problemlos. Die Kupierwunde von Lämmern, die in der ersten Lebenswoche kupiert worden waren, war bei den fünf Wochen alten Lämmern noch als kleine Kruste erkennbar. Nach einer Heilungszeit von mehr als fünf Wochen wurde es schwieriger zu erkennen, ob es sich um einen natürlich kurzen oder kupierten Schwanz handelte.

4.1.2 Pearson Korrelationen

4.1.2.1 Pearson Korrelationen zwischen der Schwanzlänge und den verschiedenen Körpermerkmalen

Die Pearson Korrelation zwischen SL und den verschiedenen Körpermaßen, als Durchschnitt über die Messperiode betrachtet, war für WH, KL und KG (KG über sieben Wochen betrachtet) mit 0,411 am höchsten, gefolgt von RH (0,388) (Tab. 21). Bei der Entwicklung der Korrelationen über die Lebenswochen fällt auf, dass für alle vier herangezogenen Merkmale die Korrelation mit SL den niedrigsten Wert in der ersten Messwoche und den höchsten in der fünften Messwoche annahm, mit Ausnahme von RH, die das Maximum erst in der siebten Messwoche erreichte (Tab. 21).

Tabelle 21: Entwicklung der Pearson Korrelationen zwischen der Schwanzlänge (SL) und den weiteren Körpermaßen

Pearson Korrelationen wurden berechnet zwischen SL und den Körpermaßen Körpergewicht (KG), Widerristhöhe (WH), Rückenhöhe (RH) und Körperlänge gemessen mit einem Körmaß (KL). Für jede Zeile wurde der minimale Wert durch Unterstreichungen und der maximale Wert durch Fettschrift hervorgehoben.

Körper- maße	Alter in Wochen									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	Mittel
SL & KG	0,435	<u>0,305</u>	0,415	0,396	0,448	0,469	0,405	0,412	-	0,411
SL & WH	0,336	<u>0,335</u>	0,404	0,453	0,437	0,475	0,424	0,457	0,379	0,411
SL & RH	0,318	<u>0,289</u>	0,349	0,432	0,402	0,453	0,412	0,473	0,360	0,388
SL & KL	0,358	<u>0,353</u>	0,451	0,399	0,447	0,460	0,383	0,428	0,424	0,411

4.1.2.2 Pearson Korrelationen für die einzelnen Körpermerkmale bei verschiedenem Alter

Die Pearson Korrelation zwischen anfänglicher Schwanzlänge und den gemessenen Schwanzlängen der ersten bis achten Lebenswoche hatte den höchsten Wert in der ersten Lebenswoche. In der zweiten Woche nahm die Korrelation um 4,45 % von 0,943 auf 0,901 ab, doch anschließend war die wöchentliche Änderung nur ein Rückgang um 2 % oder weniger pro Woche. Folglich war die Pearson Korrelation zwischen anfänglicher SL und der SL bei den acht Wochen alten Lämmer mit 0,854 immer noch hoch (Tab. 22).

Im Vergleich mit den Korrelationen zwischen initialem Wert und dem Wert beim Absetzen der anderen Körpermerkmale war die Korrelation der SL gegenüber WH (0,663), RH (0,628) und KG (0,611 in der siebten Woche) mit Abstand am höchsten. Die niedrigste Korrelation beim Absetzen war 0,404 bei KL (Tab. 22).

Für SL, KG und KL wurde die höchste Pearson Korrelation bei den einwöchigen Lämmern erreicht, während das Maximum für WH erst in der vierten Woche und für RH in der siebten Woche erreicht wurde (Tab. 22).

Tabelle 22: Entwicklung der Pearson Korrelationen innerhalb der einzelnen Körpermaße zwischen Geburt und den weiteren Messwochen

Pearson Korrelationen wurden innerhalb der Körpermaße Schwanzlänge (SL), Körpergewicht (KG), Widerristhöhe (WH), Rückenhöhe (RH) und Körperlänge gemessen mit einem Körmaß (KL) berechnet.

Für jede Zeile wurde der minimale Wert durch Unterstreichung und der maximale Wert durch Fettschrift hervorgehoben.

Körper- maß	Korrelationen zwischen den Messwochen							
	0 – 1	0 – 2	0 – 3	0 – 4	0 – 5	0 – 6	0 – 7	0 – 8
SL	0,943	0,901	0,899	0,881	0,872	0,863	0,856	<u>0,854</u>
KG	0,812	0,742	0,677	0,663	0,657	0,620	<u>0,611</u>	-
WH	0,691	0,694	0,658	0,717	0,664	<u>0,654</u>	0,657	0,663
RH	0,551	0,605	0,603	0,595	0,640	<u>0,625</u>	0,652	0,628
KL	0,621	0,529	0,537	0,449	0,405	0,528	0,489	<u>0,404</u>

4.1.3 Determinationskoeffizienten der linearen Regressionsanalyse

Um das am besten geeignete Regressionsmodell für die lineare Regressionsanalyse auszuwählen, wurde ein schrittweises Verfahren zur Variablenauswahl angewandt (*Tab. 23*). Dabei wurden insgesamt 19 Modelle (*Tab. 10*) berechnet, bestehend aus der abhängigen Variablen SL und den sieben unabhängigen Variablen WH, KL, KG, RH, Wurfgröße, Geschlecht, und Wurfgröße in Kombination mit dem Geschlecht (Wurfgröße \times Geschlecht), jeweils einzeln und in verschiedenen Kombinationen. Ein maximaler Determinationskoeffizient von 23,10 % (im Durchschnitt über sieben Wochen) wurde in Modell 17 erreicht, das WH, KL, KG und Wurfgröße \times Geschlecht beinhaltet, dicht gefolgt von Modell 14 ($R^2 = 22,98$ %) und Modell 15 ($R^2 = 22,77$ %), die neben WH und Wurfgröße \times Geschlecht als weiteren Faktor jeweils KL oder KG enthielten. Die Einbeziehung aller Variablen in ein Modell (Modell 19) kostete lediglich Freiheitsgrade des linearen Regressionsmodells, was zu einem Abfall des Determinationskoeffizienten R^2 führte, und daher für die Erklärung der Schwanzlängenvariation nicht vorteilhaft war (*Tab. 23*).

Betrachtet man die Entwicklung der einzelnen Modelle, so zeigt sich auch hier, dass R^2 bei der Messung der fünf Wochen alten Lämmer die höchsten Werte erreichten. Ausnahmen stellten nur die Modelle 4, 6 und 12 dar. In diesem Alter wurde also der höchste Anteil der Schwanzlängenvariation durch die jeweiligen Körpermerkmale erklärt. Wie bei den Pearson Korrelationen zwischen SL und den anderen Körpermerkmalen (*Tab. 21*) wurde auch bei der linearen Regression bei der Messung der einwöchigen Lämmer, der niedrigste Wert erzielt. Die Modelle 8 und 11 waren Ausnahmen und hatten den niedrigsten Wertes bei der ersten Messung (*Tab. 23*).

Tabelle 23: Determinationskoeffizienten der linearen Regressionsanalyse in %

Für jede Zeile wurde der minimale Wert durch Unterstreichen und der maximale Wert durch Fettschrift hervorgehoben. Außerdem wurde in jedem Schritt das Modell, in dem der höchste Mittelwert erreicht wurde, durch Unterstreichen und Fettschrift hervorgehoben.

Modell	Woche									Mittel
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	
1	10,25	<u>10,20</u>	15,36	19,62	18,12	21,66	17,05	19,94	13,39	16,18
2	11,78	<u>11,43</u>	19,44	14,95	19,04	20,25	13,67	17,39	17,01	16,11
3	18,02	<u>8,28</u>	16,23	14,70	18,14	21,06	15,44	16,03	-	15,99
4	9,08	<u>7,28</u>	11,16	17,73	15,15	19,58	15,98	21,50	11,96	14,38
5	2,51	<u>1,72</u>	2,84	4,64	6,56	7,20	5,09	4,14	4,93	4,40
6	1,47	1,96	0,74	1,07	0,51	-0,04	0,13	0,16	<u>-0,25</u>	0,64
7	8,05	<u>5,84</u>	8,22	7,87	8,27	9,83	6,77	6,61	6,63	7,57
8	<u>14,07</u>	14,10	20,01	21,46	22,64	23,79	17,80	21,00	17,14	19,11
9	17,52	<u>10,77</u>	17,50	20,17	20,84	23,75	18,25	19,73	-	18,56
10	9,29	<u>9,26</u>	14,42	18,99	17,42	20,85	16,34	20,74	12,44	15,53
11	<u>10,56</u>	11,25	15,50	19,78	18,99	21,39	17,42	19,43	13,63	16,44
12	15,42	<u>13,52</u>	17,90	24,15	21,34	23,53	19,56	24,06	15,39	19,43
13	16,52	<u>14,41</u>	19,69	25,57	21,77	26,49	21,03	24,66	17,20	20,82
14	18,34	<u>16,05</u>	21,83	27,04	24,30	30,79	21,29	25,40	20,96	22,89
15	21,73	<u>14,78</u>	20,55	25,86	23,72	28,89	22,04	24,59	-	22,77
16	15,53	<u>13,74</u>	19,53	24,81	20,81	25,68	20,18	25,25	16,23	20,20
17	21,19	<u>15,07</u>	21,16	26,22	24,36	30,80	21,34	24,69	-	23,10
18	21,00	<u>14,05</u>	20,17	25,21	22,89	28,07	21,06	24,84	-	22,16
19	20,61	<u>14,36</u>	20,81	25,72	23,44	29,93	20,34	25,29	-	22,56

4.2 Ergebnisse der kombinierten Kopplungsungleichgewichts- und Kopplungskartierung

Nach einer selektiven Auswahl (Abb. 8) von 260 etwa fünf Wochen alten Lämmern wurde eine kombinierte Kopplungsungleichgewichts- und

Kopplungskartierung durchgeführt. Die Genotypisierung mit dem Illumina OvineSNP50 BeadChip erfolgte mit 54.241 Markern, von denen nach Anwendung diverser Filterkriterien noch 45.009 informative Marker in den Analysen berücksichtigt wurden. In das gemischte lineare Modell der Varianzkomponentenanalyse flossen KG, WH, Wurfgröße und Geschlecht als fixe Effekte ein (Tab. 23). Zur Auswertung der erzielten Maxima der LRT-Kurve wurden sowohl genomweit als auch für jedes Chromosom einzeln Bonferroni-korrigierte Signifikanzschwellen berechnet (Tab. 24).

Einen maximalen Wert von $LRT = 16,134$ erreichte die LRT-Kurve auf Chromosom 11 an Position 37.284.948 bp (*Oar_v4.0*) bzw. 37.331.840 bp (*Oar_v3.1*), der nur knapp unter der genomweiten Signifikanzschwelle von $LRT = 16,629$ aber deutlich über der chromosomenweiten Signifikanzschwelle von $LRT = 9,490$ lag (Abb. 24(a)). Wendete man das 2-LOD-Kriterium an, lag das kausale Gen mit einer Wahrscheinlichkeit von 99 % in dem Konfidenzintervall zwischen den Positionen 36.879.120 bp und 38.529.736 bp (*Oar_v4.0*) bzw. 36.928.058 bp und 38.578.071 bp (*Oar_v3.1*). Dieses Intervall wurde anschließend in der *Ensembl* Datenbank (*Oar_v3.1*) betrachtet und folgende Gene, die in diesem Bereich liegen, wurden gefunden (Abb. 24(b)): *B4GALNT2*, *IGF2BP1*, *GIP*, *SNF8*, *UBE2Z*, *ATP5MC1*, *CALCOCO2*, *TTLL6*, *HOXB13*, *HOXB9*, *HOXB8*, *HOXB7*, *HOXB6*, *HOXB5*, *HOXB4*, *HOXB3*, *HOXB2*, *HOXB1*, *SKAP1*, *SNX11*, *NFE2L1*, *COPZ2*, *CDK5RAP3*, *PRR15L*, *PNPO*, *SP2*, *SCRN2*, *LRRC46*, *MRPL10*, *TBX21*, *TBKBP1*, *KPNB1*, *NPEPPS*, *MRPL45*, *GPR179* und *SOCS7*, sowie die uncharakterisierten proteincodierenden Gene *ENSOARG00000006940*, *ENSOARG00000007305* und *ENSOARG00000008101*. Die vollständigen Namen dieser Gene sind zusammen mit der Lokalisation in Tabelle 25 aufgeführt.

Zusätzliche chromosomenweit signifikante Peaks wurden auf den Chromosomen 2 ($LRT = 12,978$ an Position 95.594.616 bp (*Oar_v4.0*)), 3 ($LRT = 13,416$ an Position 83.960.600 bp (*Oar_v4.0*)), 6 ($LRT = 13,666$ an Position 103.225.808 bp (*Oar_v4.0*)) und 14 ($LRT = 12,640$ an Position 17.651.704 bp (*Oar_v4.0*)) gefunden (Tab. 24).

Tabelle 24: Signifikanzschwellen und Peaks

LRT-Werte, die die chromosomenweite Signifikanzschwelle überschritten, sind in fetter Schrift hervorgehoben

Chromosom	LRT-Wert Signifikanzschwelle	LRT-Wert Peak (Position Oar_v4.0)
1	12,536	7,170 (211.213.376 bp)
2	12,430	12,978 (95.594.616 bp)
3	12,218	13,416 (83.960.600 bp)
4	11,077	4,868 (2.332.155 bp)
5	10,800	4,300 (1.990.241 bp)
6	10,963	13,666 (103.225.808 bp)
7	10,694	4,486 (17.065.308 bp)
8	10,571	4,640 (44.723.592 bp)
9	10,620	3,520 (75.264.104 bp)
10	10,323	5,740 (68.327.456 bp)
11	9,490	16,134 (37.284.948 bp)
12	10,178	5,864 (68.389.184 bp)
13	10,153	4,574 (27.610.180 bp)
14	9,450	12,640 (17.651.704 bp)
15	10,158	4,084 (54.685.960 bp)
16	10,003	1,872 (26.347.756 bp)
17	9,869	9,664 (49.144.320 bp)
18	9,806	3,100 (44.475.924 bp)
19	9,582	3,218 (54.743.352 bp)
20	9,358	2,992 (42.678.056 bp)
21	8,846	2,854 (14.352.874 bp)
22	9,340	1,570 (44.238.832 bp)
23	9,354	1,680 (40.885.284 bp)
24	8,525	3,044 (105.519 bp)
25	9,152	3,320 (38.928.500 bp)
26	8,945	3,832 (28.216.482 bp)
Genom	16,632	16,134 (OAR11: 37.284.948 bp)

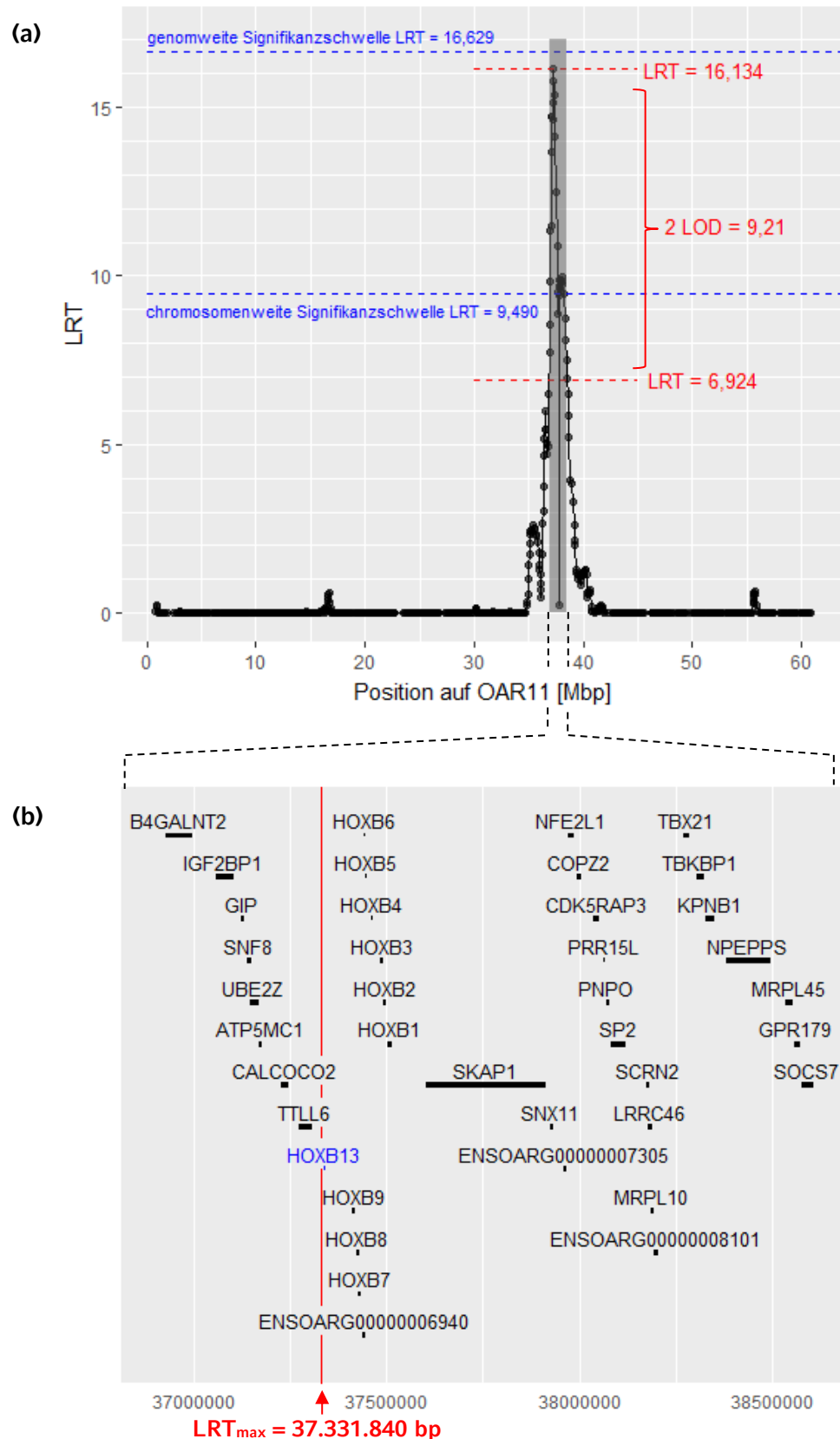


Abbildung 24: LRT-Kurve auf OAR11

- (a) Maximum der LRT-Kurve ($LRT_{max} = 16,134$; 37.331.840 bp (*Oar_v3.1*)) mit genomweiter ($LRT = 16,629$) und chromosomenweiter ($LRT = 9,490$) Signifikanzschwelle und 2-LOD-Konfidenzintervall ($LRT = 6,924$; 36.928.058 bp–38.578.071 bp (*Oar_v3.1*))
- (b) Konfidenzintervall mit annotierten Genen aus *Ensembl*

Tabelle 25: Gene im Konfidenzintervall (36.928.058 bp–38.578.071 bp) auf OAR11 (Ensembl Datenbank, Oar_v3.1))

Gen	Vollständiger Name	Start (bp)	Ende (bp)
B4GALNT2	<i>beta-1,4-N-acetyl-galactosaminyltransferase 2</i>	36.929.322	36.992.982
IGF2BP1	<i>insulin like growth factor 2 mRNA binding protein 1</i>	37.058.898	37.099.743
GIP	<i>gastric inhibitory polypeptide</i>	37.122.649	37.125.843
SNF8	<i>SNF8, ESCRT-II complex subunit</i>	37.140.993	37.148.353
UBE2Z	<i>ubiquitin conjugating enzyme E2 Z</i>	37.146.942	37.164.597
ATP5MC1	<i>ATP synthase membrane subunit c locus 1</i>	37.173.130	37.175.267
CALCOCO2	<i>calcium binding and coiled-coil domain 2</i>	37.227.823	37.243.185
TTL6	<i>tubulin tyrosine ligase like 6</i>	37.272.426	37.302.473
HOXB13	<i>homeobox B13</i>	37.337.231	37.338.988
HOXB9	<i>homeobox B9</i>	37.412.225	37.415.548
HOXB8	<i>homeobox B8</i>	37.424.042	37.425.173
HOXB7	<i>homeobox B7</i>	37.428.842	37.431.232
HOXB6	<i>homeobox B6</i>	37.440.831	37.442.516
HOXB5	<i>homeobox B5</i>	37.445.110	37.446.597
HOXB4	<i>homeobox B4</i>	37.460.283	37.461.782
HOXB3	<i>homeobox B3</i>	37.485.212	37.487.210
HOXB2	<i>homeobox B2</i>	37.492.638	37.495.405
HOXB1	<i>homeobox B1</i>	37.505.131	37.509.285
SKAP1	<i>src kinase associated phosphoprotein 1</i>	37.604.886	37.911.404
SNX11	<i>sorting nexin 11</i>	37.924.394	37.928.175
NFE2L1	<i>nuclear factor, erythroid 2 like 1</i>	37.972.076	37.981.743
COPZ2	<i>coatamer protein complex subunit zeta 2</i>	37.992.980	38.001.708
CDK5RAP3	<i>CDK5 regulatory subunit associated protein 3</i>	38.037.788	38.047.808
PRR15L	<i>proline rich 15 like</i>	38.063.059	38.063.361
PNPO	<i>pyridoxamine 5'-phosphate oxidase</i>	38.069.220	38.075.491
SP2	<i>Sp2 transcription factor</i>	38.082.581	38.118.204
SCRN2	<i>secernin 2</i>	38.175.720	38.178.899

<i>LRRC46</i>	<i>leucine rich repeat containing 46</i>	38.179.692	38.185.592
<i>MRPL10</i>	<i>mitochondrial ribosomal protein L10</i>	38.184.213	38.189.479
<i>TBX21</i>	<i>T-box 21</i>	38.271.542	38.282.106
<i>TBKBP1</i>	<i>TBK1 binding protein 1</i>	38.304.081	38.318.431
<i>KPNB1</i>	<i>karyopherin subunit beta 1</i>	38.329.212	38.348.751
<i>NPEPPS</i>	<i>aminopeptidase puromycin sensitive</i>	38.382.297	38.491.109
<i>MRPL45</i>	<i>mitochondrial ribosomal protein L45</i>	38.535.808	38.551.816
<i>GPR179</i>	<i>G protein-coupled receptor 179</i>	38.555.833	38.570.591
<i>SOCS7</i>	<i>suppressor of cytokine signaling 7</i>	38.576.815	38.603.368

5 Diskussion

5.1 Bestimmung geeigneter Korrekturfaktoren

5.1.1 Kriterien

5.1.1.1 Pearson Korrelationen

Die Pearson Korrelation zwischen der Schwanzlänge in der ersten und in der achten Lebenswoche war mit 85,4 % sehr hoch, was zeigte, dass Rückschlüsse von der anfänglichen SL auf die spätere SL möglich sein sollten (*Tab. 22*). Dies wurde auch bereits in einer vorausgegangenen Studie mit MLS-Lämmern gezeigt, in der sich eine Korrelation von 83,3 % in der 14. Lebenswoche ergab (VON SENDEN GENANNT HAVERCAMP et al., 2015). Die Messungen von KG, WH, RH und KL am ersten Lebenstag erlaubten nur deutlich geringere Vorhersagen über ihre Werte beim Absetzen (*Tab. 22*) und werden deshalb möglicherweise in größerem Maße von der Umwelt beeinflusst.

Über die acht Messwochen betrachtet ergaben sich schwache bis moderate durchschnittliche Korrelationen zwischen SL und den Körpermerkmalen KG, WH, RH und KL (*Tab. 21*). In unserer Studie betrug die Korrelation zwischen SL und KG in der ersten Woche 0,435 und in der siebten Woche 0,412. Dies waren niedrigere Werte als in der Studie von VON SENDEN GENANNT HAVERCAMP et al. (2015) mit 0,518 in der ersten Woche und 0,472 in der 14. Lebenswoche. BOHTE-WILHELMUS et al. (2010) gaben als phänotypische Korrelation zwischen Geburtsgewicht und SL einen Wert von 0,42 für Hampshire Down und 0,48 für Clun Forest an. Für Merinos fanden GREEFF et al. (2015) einen Wert von 0,53 als phänotypische Korrelation zwischen SL und KG.

5.1.1.2 Standardfehler und Variationskoeffizient der Wiederholungsmessung

Die Schwanzlänge selbst wies eine hohe Reliabilität in den

Wiederholungsmessungen auf (Standardfehler: 0,21 cm, VC: 0,72 %) und kann daher ohne Bedenken im Regressionsmodell als erforderliche abhängige Variable eingesetzt werden.

Die Widerristhöhe und die Rückenhöhe messen beide die Höhe des Tieres und korrelieren deshalb stark miteinander (0,908). Es erwies sich jedoch als vorteilhaft, WH anstelle von RH als Korrekturfaktor zu verwenden, da die Lämmer grundsätzlich besser auf ihren Vorderbeinen als auf ihren Hinterbeinen standen (aufgezogener Rücken, nicht korrekt gestreckte Gelenke an den Hintergliedmaßen). Dies wird auch durch den niedrigeren typischen Fehler von WH (0,70 cm) im Vergleich zu RH (1,09 cm) in der Wiederholungsmessung verdeutlicht.

Obwohl der Determinationskoeffizient von KL höher war als der von KG (vergleiche Modell 2 mit 3 in *Tab. 23*) und die Korrelation zwischen SL und KL den gleichen Wert wie die Korrelation zwischen SL und KG aufwies (*Tab. 21*), war die Reliabilität von KL in der Wiederholungsmessung schlechter als die von WH und RH. Folglich ist es sinnvoll, KG anstelle von KL neben WH als Korrekturfaktor für die Schwanzlänge zu verwenden.

Da sich die Erfassung von FL, ML und AS bereits in der ersten Messgruppe als nicht praktikabel erwies, standen diese Körpermerkmale nicht zur weiteren Prüfung bzw. Diskussion zur Verfügung.

5.1.1.3 Determinationskoeffizienten der linearen Regression

Im ersten Schritt der linearen Regressionsanalyse (*Tab. 23*) wurde der höchste Wert von $R^2 = 16,18 \%$ erreicht, wenn die abhängige Variable SL durch die unabhängige Variable WH (Modell 1) erklärt wurde.

Im zweiten Schritt, in dem eine zweite, unabhängige Variable zu WH hinzugefügt wurde, erreichte das Hinzufügen der Kombination aus Wurfgröße \times Geschlecht den höchsten Wert von $R^2 = 20,82 \%$ (Modell 13).

Obwohl das Hinzufügen von KL (Modell 14) anstelle von KG (Modell 15) im dritten Schritt einen höheren Anteil der Schwanzlängenvariation

erklären würde, war es aufgrund des typischen Fehlers von KL bei den Wiederholungsmessungen trotzdem vorteilhaft, KG anstelle von KL zu verwenden. Auch wenn die Einbeziehung von KG und KL (Modell 17) einen noch höheren Wert von $R^2 = 22,77 \%$ erreichte, fiel die Entscheidung auf ein Modell ohne KL, um eine Fehlerquelle aufgrund von Messungenauigkeiten zu vermeiden. Folglich schien die Kombination der unabhängigen Variablen in Modell 15 ($R^2 = 22,77 \%$), bei dem die Schwanzlängenvariation durch WH, KG und die Kombination von Wurfgröße \times Geschlecht erklärt wurde, am besten geeignet zu sein, um als Kovariablen bzw. fixe Effekte in die Varianzkomponentenanalyse einzufließen. Damit wurden alle Körpermaße, die bei den jungen Lämmern nicht mit ausreichender Genauigkeit gemessen werden konnten oder keinen statistischen Effekt auf die abhängige Variable SL im Regressionsmodell hatten, ausgeschlossen.

5.1.2 Vergleich der Ergebnisse mit früheren Studien

Das Körpergewicht wurde bereits von CARTER (1976) und JAMES et al. (1991) verwendet, um SL auf die individuelle Körpergröße zu korrigieren. Weitere bereits publizierte Korrekturfaktoren wie das Verhältnis von SL und gesamter Körperlänge inklusive Schwanz (SHELTON, 1977), die Länge der Wirbelsäule (GREEFF et al., 2015) oder die modifizierte Methode von SCOBIE und O'CONNELL (2002) zur Messung der Länge von Anus bis Sprunggelenk wurden hier aufgrund deren schlechterer Wiederholbarkeit verglichen mit WH ausgeschlossen. Es hatte für diese Studie ebenfalls keinen Nutzen, das Alter als Korrekturfaktor zu verwenden (CARTER, 1976), da es ein weiteres Ziel war, ein geeignetes einheitliches Alter für die Phänotypisierung zu finden und daher keine zusätzlichen Informationen zu erwarten waren.

Wie bereits VON SENDEN GENANNT HAVERCAMP et al. (2015) für Merinolandschafe und BOHTE-WILHELMUS et al. (2010) für Hampshire Down und Clun Forest zeigten, war das Geburtsgewicht der männlichen Lämmer höher als das der weiblichen Lämmer (*Tab. 13*), in der vorliegenden Studie war dieser Unterschied jedoch im t-Test nicht

signifikant ($P > 0.05$). Es ergab sich jedoch ein signifikanter Unterschied zwischen den fünf Wurfgröße \times Geschlecht-Gruppen in der univariaten Varianzanalyse ($P < 0,01$) mit den männlichen Einlingen als schwerste Gruppe (Tab. 14).

Im Gegensatz zu diesen zwei vorangegangenen Studien hatten die weiblichen Lämmer in dieser Arbeit im Durchschnitt einen längeren Schwanz als die männlichen Lämmer (Tab. 11). Dieser Unterschied war im t-Test zwar nicht signifikant ($P > 0,05$), dafür aber im ANOVA Verfahren ($P < 0,05$), wobei die weiblichen Einlinge im Durchschnitt die längsten Schwänze besaßen (Tab. 12).

BRANFORD OLTENACU und BOYLAN (1974) zeigten für Finnschaf-Kreuzungen, dass die SL nicht geschlechtsgebunden sei, und begründete die höhere SL der männlichen Lämmer mit deren höherem KG, da die korrigierte SL bei männlichen Tieren nicht signifikant höher war ($P < 0,05$) als die der weiblichen. Auch SHELTON (1977) gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Geschlechtern bei seinem SL-Verhältnis für Rambouillet- und Mufflon-Kreuzungen an.

Obwohl zu Geburt weder das geringere Geburtsgewicht (Tab. 13) noch die größere Schwanzlänge (Tab. 11) der weiblichen Lämmer im t-Test signifikant waren ($P > 0,05$), war der Quotient aus SL und WH bei weiblichen Lämmern zu Geburt signifikant höher ($P < 0,01$) als bei männlichen Lämmern (Tab. 17). Dies zeigte, dass das Geschlecht in dieser Studie einen Einfluss auf das Verhältnis von SL zum Körperrahmen hatte.

Entsprechend den beiden zuvor genannten Studien (BOHTE-WILHELMUS et al., 2010; VON SENDEN GENANNT HAVERCAMP et al., 2015) hatten die Einlinge in dieser Studie auch längere Schwänze als die Zwillinge (Tab. 11), beim Absetzen ($P < 0,05$). Dies lässt sich durch das höhere Körpergewicht und damit die größere Körpergröße der Einlinge erklären.

5.2 Bestimmung eines geeigneten Messzeitpunktes

5.2.1 Bedeutung des Messzeitpunktes

Ein optimaler Zeitpunkt für die Phänotypisierung war von großer Bedeutung für ein aussagekräftiges Kartierungsdesign, das nur extreme Phänotypen bei der selektiven Genotypisierung verwendete. Frühere Studien zeigten, dass die Anzahl der erforderlichen genotypisierten Individuen deutlich reduziert werden konnte, wenn eine selektive Genotypisierung durchgeführt wurde (DARVASI & SOLLER, 1992; BJØRNLAND et al., 2017). Dabei werden nur Individuen mit besonders hohen oder niedrigen phänotypischen Extremen genotypisiert, in diesem Fall Lämmer mit extrem kurzen oder extrem langen Schwänzen. Im Verlauf dieser Studie wurden jedoch vereinzelt Schwanzverletzungen in den ersten Lebenstagen beobachtet, die von einem kürzeren Schwanzphänotyp (Phänokopie) kaum bis gar nicht zu unterscheiden waren. In Herden, in denen nicht routinemäßig kupiert wird und in denen der Kupiervorgang aufgrund von Schwanzverletzungen oder Nekrosen nicht dokumentiert wird, stellt dies ein großes Problem dar. Zwar reduzieren Phänokopien generell die Leistung von allen Kartierungsdesigns, beeinträchtigen jedoch selektive Genotypisierungsdesigns noch stärker. So würden beispielsweise 8 % an kurzschwänzigen Phänokopien (8 von 101 in der Vermessungsstudie) in einem Modell, in dem 10 % der phänotypischen Extreme genotypisiert werden, die tatsächlich kurzschwänzige Gruppe vollständig ausgleichen. Dies verdeutlicht die Bedeutung der Phänotypisierung in einem Alter, in dem Phänokopien noch sichtbar sind, aber sowohl das Hauptmerkmal SL als auch die korrelierten Merkmale mit hoher Zuverlässigkeit gemessen werden können.

5.2.2 Kriterien für die Auswahl des Messzeitpunktes

Es erwies sich in der durchgeführten Studie als großer Vorteil, dass Lämmer anstelle von erwachsenen Schafen phänotypisiert wurden, da diese kleiner und leichter und daher einfacher zu händeln sind. Außerdem ist es bei jungen Lämmern noch möglich zwischen einem natürlich kurzen

und einem kupierten Schwanz zu unterscheiden, um Phänokopien zu vermeiden. Jedoch sollte trotzdem bereits eine hohe Reliabilität in der Wiederholungsmessung gegeben sein.

Betrachtet man alle Ergebnisse gesammelt, so scheint ein Alter von fünf Wochen das geeignetste Alter für die Phänotypisierung zu sein. In diesem Alter begannen die Lämmer ruhig und aufrecht zu stehen, was sich in niedrigeren Variationskoeffizienten bei den Wiederholungsmessungen im Vergleich zum Durchschnitt über die gesamte Messperiode für alle Körpermaße zeigte. Für SL lag für dieses Alter sogar der niedrigste Wert des gesamten Messzeitraums vor (*Tab. 26*). Darüber hinaus gab es in diesem Alter keine wesentlichen Änderungen mehr in der OviCap-Schwanzlängenklassifizierung, mit Ausnahme der Grenzfälle, die fast wöchentlich zwischen zwei OviCap-Stufen wechselten (*Tab. 26*). Ein weiteres sehr wichtiges Kriterium ist, dass in diesem Alter der Kupiervorgang bei Lämmern mit Schwanzverletzung noch anhand einer kleinen Kruste erkannt werden konnte (*Tab. 26*). Verwendete man das Modell 15, das KG, WH und die Kombination von Wurfgröße \times Geschlecht in der linearen Regressionsanalyse, lag hier für die fünfte Messwoche ein maximaler Wert von 28,89 % für den Determinationskoeffizienten vor (*Tab. 26*).

Tabelle 26: Entscheidungskriterien für den besten Messzeitpunkt

Für die Variationskoeffizienten (CV) der Schwanzlänge (SL) und der Widerristhöhe (WH) sowie für den Determinationskoeffizienten R^2 wurden minimale Werte durch Unterstreichung und maximale Werte durch Fettschrift hervorgehoben.

Kriterien		Alter (in Wochen)									Mittel
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	
Veränderungen in OviCap ¹		16 (+4)	4 (+3)	2 (+4)	(5)	(3)	(3)	(3)	(5)		
Kupierwunde ²		++	++	++	+	+	+ -	-	-		
CV (in %) der Wiederholungsmessungen	SL	0,69	0,96	0,98	0,76	<u>0,43</u>	0,65	0,67	0,52	0,72	
	WH	1,87	1,21	1,85	1,22	0,98	1,22	0,86	<u>0,73</u>	1,36	
R^2 der linearen Regressionsanalyse (Model 15)		21,73	<u>14,78</u>	20,55	25,86	23,72	28,89	22,04	24,59	-	22,77

¹ Grenzfälle in Klammern

² von ++: deutlich zu sehen zu - -: kann nicht mehr aufgefunden werden

5.3 Wahl der Methode

Nachdem geeignete Korrekturfaktoren für SL im linearen Regressionsmodell und ein geeignetes Alter für die Phänotypisierung gefunden wurden, wurde nach der Genotypisierung eine cDLA mit 260 Lämmern durchgeführt. Dieses Kartierungsdesign wurde aufgrund seiner hohen Kartierungsgenauigkeit (KUNZ, 2016; MÜLLER, 2016) und seiner geringen Störanfälligkeit (KUNZ, 2016) verwendet.

Zunächst wurde in der cDLA die genomweite IBD über alle Chromosomen geschätzt. Es zeigte sich jedoch eine Verbesserung im Sinne eines leichten Anstiegs der Maxima der LRT-Kurve (z.B. OAR11 von $LRT = 15,792$ auf $LRT = 16,134$) wenn das auszuwertende Chromosom aus der Schätzung der genomweiten IBD herausgenommen wurde.

Außerdem erwies es sich als Vorteil bei diesem Modell, KG und WH zu standardisieren und zu zentrieren, um optimale Kartierungsergebnisse zu erhalten.

Nach Abschluss der Kartierung wurden mögliche Kandidatengene für die Schwanzlänge gesucht.

5.4 Mögliche Kandidatengene in dieser Studie

Zur Ermittlung möglicher Kandidatengene für einen kurzen Schwanz beim MLS wurden die Gene zwischen Position 36.879.120 bp und Position 38.529.736 bp (*Oar_v4.0*) bzw. 36.928.058 bp und 38.578.071 bp (*Oar_v3.1*) auf Chromosom 11 betrachtet (Tab. 25). Aufgrund ihrer Funktion wird im Folgenden den Genen *B4GALNT2*, *HOXB13*, *HOXB8* und *HOXB6* besondere Aufmerksamkeit geschenkt.

B4GALNT2 steht im Zusammenhang mit einer hohen Fruchtbarkeit bei den französischen Lacaune Schafen durch eine ektopische Expression innerhalb des Ovars, die zu einer untypischen Glykosylierung des wichtigen, die Funktion der Ovarien regulierenden Hormons Inhibin führt (DROUILHET et al., 2013). Die Variation in der Wurfgröße wird genetisch mitbestimmt durch den Einfluss des Locus *FecL* bzw. des Fruchtbarkeits-

Allels *FecL^L* auf die Ovulationsrate (DROUILHET et al., 2009). DROUILHET et al. (2013) identifizierten *B4GALNT2* als das wahrscheinlichste Kandidatengen für *FecL*, da nur bei *FecL^L*-Trägerschaften die Transferaseaktivität von *B4GALNT2* in Granulosazellen lokalisiert wurde. Auch bei den im Südwesten Algeriens und im Süden Marokkos vorkommenden D'man Schafen verknüpften JEMAA et al. (2019) die hohe Fruchtbarkeit mit der *FecL^L*-Mutation im Gen *BAGALNT2*. GUO et al. (2018) zeigten bei Small Tail Han Schafen und bei Tan Schafen, dass die Expression von *B4GALNT2* im Ovar signifikant höher war als in anderen Geweben, wodurch sie ebenfalls vermuteten, dass dieses Gen eine wichtige Rolle im Reproduktionsgeschehen bei Schafen spielt.

Die Nähe des maximalen LRT-Wertes zu diesem mit der Fruchtbarkeit assoziierten Gen in Verbindung mit der von CARTER (1976) für die Rasse Romney beschriebenen verringerten Lebensfähigkeit von Embryonen, bei denen ein homozygoter Zustand der vermeintlichen Allele für Kurzschwanzigkeit vorliegt, deutet auf eine mögliche Kopplung oder ein Kopplungsungleichgewicht von Genen, die die Schwanzlänge beeinflussen, und Fruchtbarkeits-Genen hin.

Nur 5,40 kb entfernt vom Maximum der LRT-Kurve bei 37.331.840 bp (*Oar_v3.1*) befindet sich das zur Familie der Homeobox-Gene (*Hox*-Gene, Abb. 25) gehörende Gen *HOXB13*.

Hox-Gene sind Transkriptionsfaktoren, die zuerst in *Drosophila* beschrieben wurden mit der Fähigkeit, segmentale homöotische Veränderungen des Körperbauplans zu bewirken, d. h. die Umwandlung einer Körperstruktur in eine andere (LEWIS, 1963). Fliegen besitzen acht *Hox*-Gene in einem einzigen Cluster, Säugetiere in vier Clustern angeordnet 39 *Hox*-Gene (GOODMAN, 2003). Es wird angenommen, dass das ursprüngliche *Hox*-Gencluster aus einem einzigen Locus entstand und als Ergebnis mehrere Tandem-Duplikationsereignisse gefolgt von Genom-Duplikationen zu der Anzahl von Clustern führten, die heute bei höheren Wirbeltieren zu finden sind. Bei Säugetieren entstand eine relativ feste Anordnung der vier Cluster, die aus 13 paralogen Gruppen bestehen, welche auf Sequenzähnlichkeiten und Positionen innerhalb des Clusters zurückzuführen sind (WELLIK, 2007).

Die *Hox*-Gene blieben während der gesamten Evolution der Wirbeltiere erhalten und sind wichtig für die Strukturierung des Körperbauplans der Wirbeltiere (WELLIK, 2007). Sie sind während der Embryogenese an der Bestimmung der positionsbezogenen Identität beteiligt und der Erwerb oder der Verlust von Funktionsmutationen kann durch den Austausch eines Körperteils oder Segments durch ein anderes zu dramatischen Veränderungen führen (COATES & COHN, 1998). Ihre entscheidende Rolle bei der anterior-posterioren Strukturierung des axialen Skeletts von Wirbeltieren wurde sowohl durch Funktionsverstärkungs- als auch Funktionsverlust-Experimente nachgewiesen (WELLIK, 2009).

Bei Versuchen mit paralogen Mutanten wurde entdeckt, dass die Duplikationen von Genen auch redundantes genetisches Material unter den paralogen *Hox*-Genen liefern. Deshalb führt der Funktionsverlust eines *Hox*-Gens aus einem Cluster in der Regel zu anterioren ausgleichenden Umwandlungen entlang der Achse und damit zu weniger schweren Folgen bei der axialen Strukturierung. Erst durch den Funktionsverlust mehrerer Paraloge resultieren schwerwiegendere Phänotypen (WELLIK, 2007).

So zeigten beispielsweise CONDIE und CAPECCHI (1994) als erste bei Mäusen, dass der homozygote Funktionsverlust von *HOXD3* zu einer Umgestaltung des kraniozervikalen Gelenks und einer teilweisen Fusion des Atlas mit dem Hinterhauptbein führt. Der Funktionsverlust von *HOXA3* führte zu keinen Defekten im kraniozervikalen Gelenk. Bei *HOXA3/HOXD3*-Doppelmutanten war jedoch der Atlas im Neugeborenenstadium nicht mehr vorhanden.

Gründe für den hohen Grad der Redundanz unter den *Hox*-Genen sind wahrscheinlich die gemeinsamen Regulierungsmechanismen innerhalb der *Hox*-Cluster, die für die Festlegung der kollinearen Expression notwendig sind, die wiederum untrennbar mit ihrer physikalischen Anordnung auf dem Chromosom verbunden ist. (WELLIK, 2007).

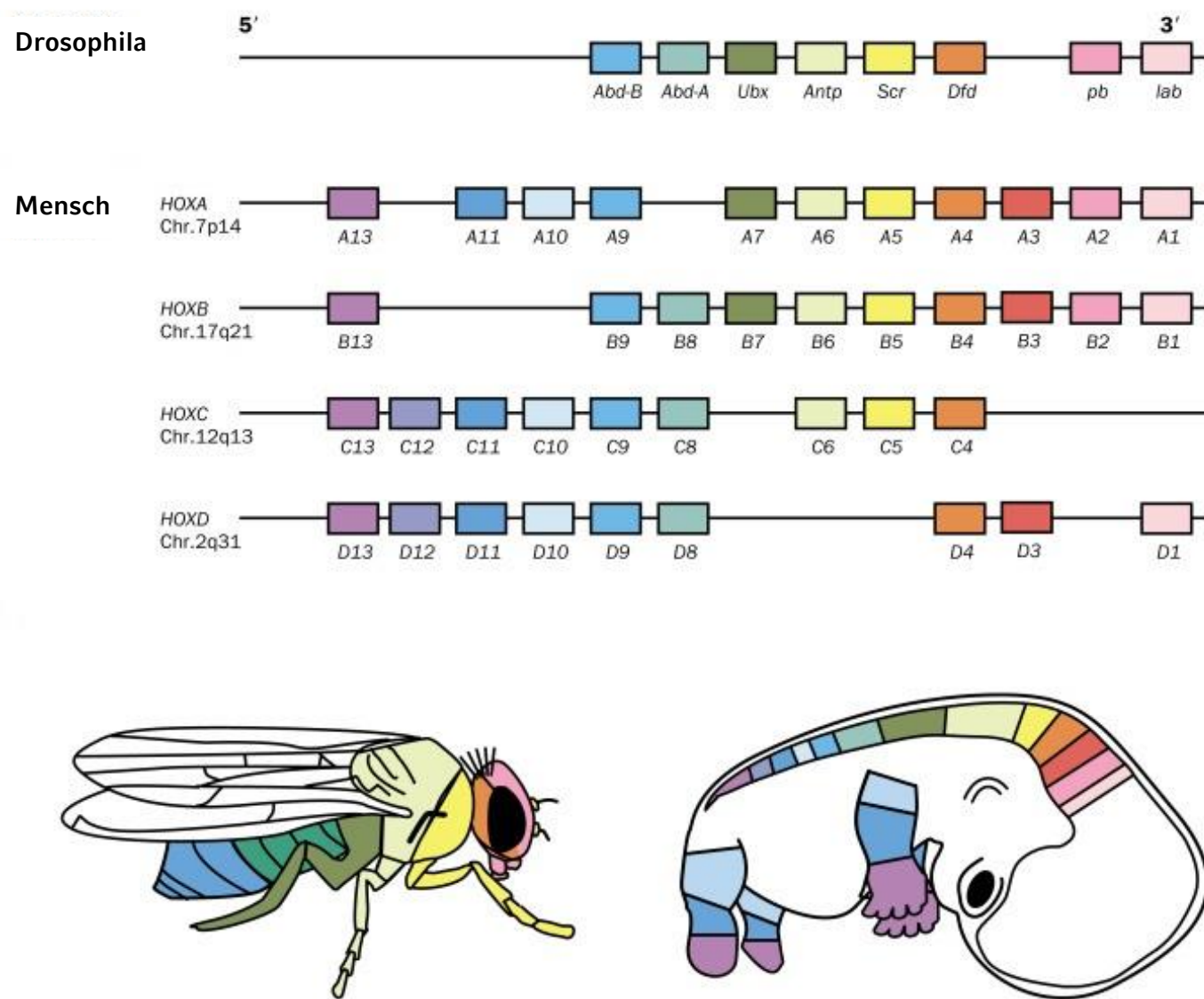


Abbildung 25: Hox-Cluster bei Drosophila und beim Menschen (Quelle: modifiziert nach GOODMAN (2003))

Die vier *Hox*-Cluster (Cluster A–D) der Säugetiere befinden sich auf vier verschiedenen Chromosomen und beinhalten jeweils zwischen neun und elf Gene. Insgesamt umfassen sie 39 Gene, die in 13 paraloge Gruppen (1–13) unterteilt werden. Während der Embryogenese entspricht die Reihenfolge der Gene in jedem Cluster ihrer zeitlichen und räumlichen Expression. Gene am 3'-Ende jedes Clusters werden früh und in mehr rostralen und proximalen Regionen des Embryos exprimiert, wohingegen Gene am 5'-Ende später und in mehr kaudalen und distalen Bereichen exprimiert werden. (GOODMAN, 2003).

Da es sich bei den *Hox*-Genen um stark konservierte Gene handelt, gibt es zwischen der Embryogenese von *Drosophila* und der Embryogenese der Wirbeltiere enge Parallelen. Deshalb stellt *Drosophila* mit ihren 8 *Hox*-Genen in der molekularen Genetik ein universelles aber einfacheres Modell für die embryonale Musterbildung dar (CLASSEN-LINKE & BEIER, 2001)

HOXB13 wird bei Mäusen in den kaudalen Regionen des sich entwickelnden Embryos im zweiten Drittel der Trächtigkeit exprimiert (ZELTSER et al., 1996).

Für diese Tierart zeigten ECONOMIDES et al. (2003), dass *HOXB13* hemmend auf das axiale Wachstum wirkt, da eine Mutation mit Funktionsverlust ein Überwachstum des kaudalen Rückenmarks und der Schwanzwirbel verursachte. Die Erklärung ist vermutlich seine Wirkung als Hemmer der neuronalen Zellproliferation, als Aktivator apoptotischer Signalwege im sekundären Neuralrohr und als allgemeiner Hemmer des Wachstums in den Schwanzwirbeln. Funktionsverlust-Mutationen in *HOXA13*, *HOXC13* und *HOXD13*, den weiteren Genen der paralogen Gruppe der *HOX13*-Gene, verursachen jedoch keine Verlängerung der Wirbelsäule (FROMENTAL-RAMAIN et al., 1996; GODWIN & CAPECCHI, 1998).

Cdx-Gene sind mit den *Hox*-Genen verwandt und werden ebenfalls während der Embryogenese exprimiert (DESCHAMPS & VAN NES, 2005). *Cdx*-Mutationen haben in Mäuseembryonen Einfluss auf die axiale Längenausdehnung, indem sie die Produktion von kaudalem embryonalem Gewebe in allen drei Keimschichten beeinflussen (YOUNG et al., 2009). *Cdx2* homozygote Nullmutanten sterben zwischen 3,5 und 5,5 Embryontagen aufgrund von Defekten im Trophoblasten, *Cdx2* heterozygote Mutanten-Mäuse weisen neben einem gestörten Wachstum oft auch Schwanzanomalien wie verkürzte oder geknickte Schwänze auf (CHAWENGSAKSOPHAK et al., 1997). YOUNG et al. (2009) zeigten in ihrer Studie an Mäusen, dass eine Expression von *HOXB13* aus dem *Cdx2*-Promotor mit dem Überleben der transgenen Tiere vereinbar war und dass homozygot transgene *HOXB13* Mäuse einen kürzeren Schwanz besaßen.

Aufgrund des Einflusses auf die Schwanzlänge bei Mäusen und der ähnlichen Wirkung von *Hox*-Genen bei allen Vertebraten, bleibt *HOXB13* in unserer Studie ein wichtiges Kandidatengen für die Schwanzlänge bei Merinolandschafen.

Die ebenfalls im Konfidenzintervall liegenden Gene *HOXB9*, *HOXB8* und *HOXB5* werden während der Entwicklung der Gliedmaßen exprimiert und

alle drei Gene wurden mit dem Verhältnis der Gliedmaßen zur Strukturierung entlang der Körperachse assoziiert. (COATES & COHN, 1998). Neben der Rolle bei der Gliedmaßenentwicklung hat *HOXB8* Einfluss auf die axiale Längenausdehnung und die embryonale Lebensfähigkeit.

Bei *Cdx2/4*-mutierten Mäusen wird die Abnahme der Länge des paraxialen Mesoderms, d. h. der Somiten, während der Embryogenese immer gravierender, bis die axiale Ausdehnung bei überlebenden Mutanten nach 15,5 Embryonaltagen etwa im Sakralbereich endet (YOUNG et al., 2009). Die Studie zeigte jedoch, dass der Erwerb einer *HOXB8*-Expression in *Cdx2/4*-Mutanten den Verlust der *Cdx*-Allele kompensierte und die axiale Skelettmorphologie von Stamm und Schwanz signifikant wiederhergestellt wurde. Darüber hinaus reduzierte die *HOXB8*-Expression die Uterussterblichkeit der *Cdx2/4*-Mutanten, indem sie Defizite in der plazentaren Gefäßversorgung beseitigte.

Somit könnte *HOXB8* auch in dieser Studie mit Merinolandschaften eine Rolle spielen, einerseits aufgrund der Beeinflussung der axialen Ausdehnung, also der Schwanzlänge, und andererseits durch Beeinflussung der möglicherweise damit zusammenhängenden embryonalen Letalität. Daher muss *HOXB8* auch als weiteres Kandidatengen betrachtet werden.

Das *HOXB6*-Gen liegt ebenfalls innerhalb des 2-LOD-Intervalls und kann neben einer Beteiligung an der Bildung des Thoraxbereichs durch seine rippenfördernde Aktivität auch die Somatogenese im kaudalen Embryo durch einen Mechanismus stören, der unabhängig von den anderen Eigenschaften ist (CASACA et al., 2016). Da *HOXB6*-transgene Mäuse in ihrer Studie geknickte Schwänze und eine Reduzierung der Schwanz- und Körperlänge zeigten, vermuteten CASACA et al. (2016) eine Beteiligung dieses Gens an der korrekten Segmentierung in den Schwanzknospen-Stadien.

Da die an diesem Regulierungsprozess beteiligten Mechanismen jedoch nach unserem Kenntnisstand noch nicht vollständig identifiziert sind, wird *HOXB6* in unserer Studie noch nicht als Kandidatengen betrachtet.

Es sollte auch bedacht werden, dass die unterschiedliche Schwanzlänge auch durch verschiedene Kombinationen von Mutationen in den *Hox*-Genen verursacht werden könnte. Da es sich bei der Schwanzlänge vermutlich um ein polygenes Merkmal handelt, und bei den *Hox*-Genen, wie bereits dargestellt, Cluster mit Duplikationen auf verschiedenen Chromosomen existieren, kann der Ausfall eines *Hox*-Gens durch die Funktion der anderen Kopien kompensiert und die Schwanzlänge somit auf eine komplexe Art und Weise beeinflusst werden. Ebenfalls sollte berücksichtigt werden, dass *Hox*-Gene Transkriptionsfaktoren sind und als solche die Transkription von weiteren Genen oder Genkaskaden beeinflussen. Somit stellen auch Gene, deren Transkription beispielsweise durch *HOXB13* beeinflusst wird, weitere Kandidaten dar.

5.5 Mögliche Kandidatengene in vorangegangenen Studien

ZHI et al. (2018) identifizierten bei den chinesischen Hulunbuir Kurzschwanz-Schafen eine c.G334T Mutation im *T*-Gen als wahrscheinlichste Ursache für den kurzschwänzigen Phänotyp. Um die genomischen Regionen zu lokalisieren, die mit dem kurzschwänzigen Phänotyp assoziiert sind, wurde eine Kombination aus Fixations-Index (F_{ST}) und Heterozygotie (H_P) angewandt. Zur Identifizierung der Gene wurden auch hier Schafe mit besonders kurzem Schwanz ausgewählt und eine Ganzgenomsequenzierung dieser durchgeführt.

Auch bei Mäusen soll das *T*-Gen, auch Brachyurie-Gen genannt, mit der Entwicklung der Wirbelsäule zusammenhängen und somit mit einem kurzen Schwanz in Verbindung stehen. Mäuse, die heterozygot für die Mutation sind, besitzen einen kurzen, oft leicht geknickten Schwanz. Embryonen mit einer homozygoten Form bilden keine richtige Allantois und sterben aufgrund des fehlenden Notochords und fehlender Strukturen hinter dem siebten Somat in der Mitte der Tragezeit (GLUECKSOHN-SCHOENHEIMER, 1944; GRÜNEBERG, 1958; BEDDINGTON et al., 1992).

BUCKINGHAM et al. (2013) zeigten, dass der kurzschwänzige Phänotyp

bei Manx-Katzen auch durch natürlich vorkommende Mutationen in *T* verursacht wird, insbesondere durch die drei Deletionen c.998delT, c.1169delC und c.1199delC.

In unserer Studie konnten wir jedoch bei Merinolandschafen keinen Anstieg der LRT-Kurve im Bereich des *T*-Gens (OAR8: 87.796.143 bp - 87.805.552 bp) feststellen.

YOO et al. (2017) wollten den genetischen Ursprung kurzer Schwänze bei der koreanischen Hunderasse DongGyeonggi identifizieren. Dafür vollzogen sie nach einer Ganzgenomsequenzierung eine Analyse der Populationsstratifikation mit zehn anderen Hunderassen. Die Genotypen, *Selective sweep* Regionen und die Demographie der DongGyeonggi wurden ebenfalls untersucht. Die Identifizierung der kausalen Variante des Schwanzverlustes wurde mittels einer Varianzanalyse separat für zwei Stichprobengruppen mit schwanzlosen und kurzschwänzigen Tieren durchgeführt. Daraufhin schlugen sie vor, dass die selektierten Gene *ANKRD11* und *ACVR2B* zur Reduzierung der Schwanzlänge beitragen könnten. Außerdem fanden sie eine nichtsynonyme Variante in der kodierenden Sequenz des *T*-Gens und eine CpG-Inselvariante des *SFRP2*-Gens als mögliche kausale Varianten, die für den Schwanzverlust verantwortlich sein könnten.

Bereits in vorhergehende Studien wurde ebenfalls das *T*-Gen mit einem kurzschwänzigen Phänotyp bei verschiedenen Hunderassen assoziiert (HAWORTH et al., 2001; HYTÖNEN et al., 2009).

Bei den Merinolandschafen in unserer Studie wurde jedoch weder im Bereich von *ANKRD11* (OAR14: 13.858.708 bp – 13.884.920 bp) noch von *ACVR2B* (OAR19: 11.769.555 bp – 11.793.283 bp) oder von *SFRP2* (OAR17: 3.719.522 bp – 3.727.430 bp) ein signifikanter Anstieg des LRT-Wertes beobachtet.

Bei asiatischen Hauskatzen wurde eine reine Kopplungskartierung, die auf Daten von Ganzgenomsequenzierungen aus dem Stammbaum basierte, durchgeführt. Dabei wurde das Kurzschwanz-Merkmal in einer Region auf Chromosom E1 kartiert, in der die Substitution c.5T>C im Somitsegmentierungs-bezogenen Gen *HES7* als kausale Mutation identifiziert

wurde, die zu einer Missense-Veränderung führt (p.V2A). Da der kurze Schwanz von einem Teil der in dieser Studie beprobten Tiere jedoch weder auf die Mutation in *HES7* noch auf das Manx-bezogene *T*-Gen zurückzuführen war, vermuteten sie drei unabhängige Ereignisse, die zu einem kurzschwänzigen Phänotyp bei den domestizierten Katzen führen könnten (XU et al., 2016).

HES7 (OAR11: 27.325.471-27.327.193) liegt jedoch 10,00 Mb von dem LRT-Maximum der cLDLA der vorliegenden Studie entfernt und wird deshalb auch nicht als Kandidatengen für die Schwanzlänge beim Merinolandschaf in Betracht gezogen.

5.6 Ausblick

Aus den Ergebnissen dieser Studie ist es nicht möglich, eine sichere Aussage zum genetischen Hintergrund der Schwanzlängenvariation beim Merinolandschaf zu treffen.

Um die LRT-Maxima zu überprüfen und bestenfalls zu erhöhen, muss das Tierset vergrößert werden. Daher sollten mehr Tiere mit extrem kurzen und extrem langen Schwänzen phänotypisiert, beprobt, genotypisiert und der cLDLA unterzogen werden, um die genomweite Signifikanzschwelle deutlich überschreiten zu können. Anschließend könnte es möglich sein, die im 2-LOD-Intervall liegenden Kandidatengene zu bestätigen und die zugrundeliegende(n) kausale Mutation(en) zu identifizieren.

Der Weg bis zur vollständigen Aufklärung der genetischen Hintergründe der Schwanzlängenvariation beim MLS ist möglicherweise noch ein weiter. Da vorausgegangene Studien die Vermutung aufkommen lassen, dass es sich bei der Schwanzlängenvariation um kein monogenes Merkmal handelt, sondern möglicherweise mehrere QTLs dieses Merkmal beeinflussen, wird die Suche nach der zugrundeliegenden Mutation erschwert. Dies bedeutet gleichzeitig, dass ein verbessertes Kartierungsdesign nicht nur den LRT-Wert auf Chromosom 11 über die genomweite Signifikanzschwelle bringen soll, sondern auch weitere QTLs mit kleineren Effekten als signifikant bestätigen soll.

Parallel zum Ausbau eines verbesserten Kartierungsdesigns soll eine Sequenzierung von ausgewählten Haplotypenträgern aus beiden selektierten Gruppen mit sehr kurzen und sehr langen Schwänzen vorbereitet werden. Die Sequenzierung soll parallel mit langen (NanoPore) und kurzen Reads (Illumina) durchgeführt werden. Eine komparative Analyse der eigenen Sequenzergebnisse mit verfügbaren Sequenzen von kurz- und langschwänzigen Schafen sowie asiatischen Mufflons könnte zu mehr Klarheit, zumindest in der ersten Kandidatenregion, beitragen.

Wenn es gelingt, die kausale(n) Mutation(en) und präzisere Haplotypen zu identifizieren oder gekoppelte Varianten zu finden, um den Genotyp am unbekannten Locus ableiten zu können, könnte eine Gen-assistierte Selektion den Züchtern helfen, die bestgeeignetsten Tiere für eine Anpaarung auf kürzere Schwänze auszuwählen. Sowohl der bekannte Locus bzw. die bekannten Loci als auch gekoppelte Varianten könnten dann bei Böcken und wichtigen Mutterschafen per Gentest genotypisiert werden, wodurch man homozygote und heterozygote Anlageträger der Mutation(en) unterscheiden könnte. Mit dieser genetischen Lösung für die Zucht auf kürzere Schwänze könnte einem möglichen zukünftigen Kupierverbot aufgrund möglicher zukünftiger Novellierungen des Tierschutzgesetzes vorgebeugt werden. Bei dieser Zucht würde es sich außerdem um einen Weg „zurück zum Ursprung“ handeln, da die Vorfahren unserer heutigen domestizierten Schafe einen natürlich kurzen Schwanz besitzen.

Beim Ausbau des Kartierungsdesigns sollte auch weiterhin die mögliche Kopplung der Schwanzlänge mit Fruchtbarkeitsloci im Auge behalten werden. Würden sich die Beobachtungen einer erhöhten Letalität bei der Zucht auf kürzere Schwänze wie in vorhergegangenen Studien gezeigt, bestätigen, würde es sich möglicherweise um einen größeren wirtschaftlichen Nachteil für Züchter handeln. Dann könnte jedoch die alternative Kreuzungszucht mit Kurzschwanzrassen, die eine natürlich hohe Fruchtbarkeit haben und keine negativen Begleiterscheinungen zeigen, stärker in den Focus rücken.

Da das Verständnis der Wirkungsweise von *Hox*-Genen von allgemeiner entwicklungsbiologischer Bedeutung ist, könnten kausale Varianten für

die Schwanzlänge beim Merinolandschaf ebenfalls von interdisziplinärem wissenschaftlichen Interesse sein.

6 Zusammenfassung

Schwanzkupieren bei jungen Lämmern langschwänziger Schafrassen ist eine weltweit gängige Praktik, die jedoch mit Schmerzen, Leiden und Schäden bei den betroffenen Tieren verbunden ist. Da der Tierschutz heutzutage eine immer wichtigere Rolle in der Gesellschaft einnimmt und tierschutzwidrige Praktiken zunehmend vom Gesetzgeber verboten oder strenger reguliert werden, ist die Notwendigkeit einer nicht-invasiven Lösung für einen kürzeren Schwanz groß, vor allem bei langschwänzigen Rassen wie den Merinos, einer der wichtigsten und häufigsten Schafrassen weltweit. Eine züchterische oder Gen-gestützte Rückzüchtung der Schwanzlänge kann eine solche nicht-invasive Lösung darstellen. Da alle Wildschafsubspezies inklusive der Vorfahren unserer Hausschafe einen kurzen Schwanz besitzen, ist eine Rückzüchtung auf einen ursprünglichen Phänotyp ethisch vertretbar und aus Tierwohlperspektive wünschenswert.

Ziel dieser Arbeit war es deshalb, die natürliche Schwanzlängenvariation beim Merinolandschaf, der in Deutschland am häufigsten vertretenen Schafrasse, zu untersuchen und mögliche kausale Gene für den kurzen Schwanzphänotyp zu ermitteln. Um die Autokorrelation von Schwanzlänge und individueller Körpergröße im gewählten Kartierungsdesign zu berücksichtigen, wurden in dieser Studie zunächst geeignete Korrekturfaktoren für individuelle Körpergröße und ein geeigneter Messzeitpunkt für die Phänotypisierung identifiziert.

Für diesen Zweck wurden insgesamt 88 Merinolandschafflämmer von der Geburt bis zum Absetzen in der 8. Lebenswoche wöchentlich vermessen. Neben der Schwanzlänge selbst wurden dabei Körpergewicht, Widerristhöhe, Rückenlänge, Körperlänge sowohl mit einem Körmaß als auch mit einem Maßband gemessen, die Längen des Metakarpus und des Femurs und die Länge von Anus bis Sprunggelenk erfasst. Außerdem wurde die Schwanzlänge nach dem OviCap Schema eingeteilt, Geschlecht und Wurfgröße wurden dokumentiert und die Wunde bei Lämmern, die aufgrund von Schwanzverletzungen kupiert werden mussten, wurde im Heilungsverlauf untersucht.

Nach statistischer Auswertung der Messdaten erwiesen sich Widerristhöhe, Körpergewicht und die Kombination aus Wurfgröße \times Geschlecht aufgrund einer hohen Reliabilität in den Wiederholungsmessungen, eines höheren Determinationskoeffizienten im linearen Regressionsmodell und einer hohen Korrelation mit der Schwanzlänge als am besten geeignete Korrekturfaktoren auf individuelle Körpergröße. Als optimaler Zeitpunkt für die Phänotypisierung wurde ein Alter von fünf Wochen festgesetzt, da in diesem Alter Phänokopien durch Schwanzkupieren bei Lämmern mit einer Schwanzverletzung noch erkennbar sind, ein höherer Determinationskoeffizient im linearen Regressionsmodell vorliegt und eine hohe Reliabilität bei der Wiederholung erzielt werden kann.

Anschließend wurden aus 2395 visuell betrachteten Merinolandschaftslämmern 260 Lämmer mit besonders kurzen und besonders langen Schwänzen mittels selektiver Genotypisierung ausgewählt, phänotypisiert und beprobt. Die Genotypisierung dieser Tiere erfolgte mit dem Illumina OvineSNP50 BeadChip mit 54.241 Markern, von denen nach Anwendung diverser Filterkriterien noch 45.009 informative Marker in den Analysen berücksichtigt wurden. Daraufhin wurde eine kombinierte Kopplungsungleichgewichts- und Kopplungsanalyse (cLDLA) durchgeführt, bei der Körpergewicht, Widerristhöhe, Geschlecht und Wurfgröße als fixe Effekte in das lineare Modell in der Varianzkomponentenanalyse einfließen.

Die Kartierung ergab einen maximalen *Likelihood ratio test statistic (LRT)* Wert von $LRT = 16,134$ an Position 37.284.948 bp auf OAR11, der nur knapp unter der genomweiten Signifikanzschwelle von $LRT = 16,629$, aber deutlich über der chromosomenweiten Signifikanzschwelle von $LRT = 9,490$ lag. Innerhalb des Konfidenzintervalls wurde *HOXB13* aufgrund seiner Nähe zum LRT-Maximum und seines Einflusses auf die Schwanzlänge bei Mäusen als wichtigstes potenzielles Kandidatengen identifiziert. Da es sich bei der Schwanzlänge jedoch vermutlich um ein polygenes Merkmal handelt und bei den *Hox*-Genen paraloge Cluster auf verschiedenen Chromosomen existieren, kann der Ausfall eines *Hox*-Gens durch die Funktion der anderen Kopien kompensiert und die

Schwanzlänge somit auf eine komplexe Art und Weise beeinflusst werden. Um die LRT-Maxima zu überprüfen und bestenfalls die genomweite Signifikanzschwelle zu überschreiten, sollten weitere Tiere mit extrem kurzen und extrem langen Schwänzen phänotypisiert, genotypisiert und der cLDLA unterzogen werden. Die hier erzielten Ergebnisse bilden dennoch eine solide Basis für eine vergleichende Analyse der Sequenzdaten aus kurz- und langschwänzigen Schafen bzw. Mufflons.

7 Summary

Tail docking in young lambs of long-tailed sheep breeds is a common practice worldwide that is associated with pain, suffering and damage to the affected animals. With increasing importance of animal welfare in today's society and tightening animal welfare laws, a non-invasive solution for shorter tails is urgently needed, especially in long-tailed breeds like the Merino, which is one of the most important and most numerous sheep breeds worldwide. Classical breeding or gene-assisted selection for a shorter tail might be such a non-invasive alternative. Since all subspecies of wild sheep have short tails, breeding for the ancestral phenotype can be ethically justified and, from an animal welfare point of view, is desirable.

This study thus aimed to investigate the natural variance in tail length in Merinolandschaf, the most numerous sheep breed in Germany, to identify possible candidate genes for the short-tail phenotype. To consider the autocorrelation between tail length and individual body size in the selected mapping design, suitable correction factors and the optimum time point for phenotyping were to be identified first.

For this aim, different morphometric measurements were collected in 88 Merinolandschaf lambs weekly from birth until weaning. Besides tail length, body weight, height at the withers, back height, length of the body measured with a rule and a tape, length of the metacarpus and the femur and the length from the anus to the hock were measured. Furthermore, tail length was scored according to the OviCap scheme, gender and litter size were documented and the tail wound of lambs that had to be docked due to tail injuries was investigated in its healing process.

Statistical analysis of the collected measurements showed that height at the withers, body weight and the combination of litter \times gender were the best suitable correction factors for individual body size due to high retest reliability, a higher coefficient of determination in the linear regression model and a high correlation with tail length. An age of five weeks was identified as the optimum time point for phenotyping because phenocopies due to tail docking were still visible and the coefficient of determination in

the linear regression model as well as the retest reliabilities were high.

Subsequently, 260 lambs with especially short and especially long tails were selected from 2395 visually inspected lambs via selective genotyping approach, phenotyped and sampled. Genotyping of the samples was carried out using the Illumina OvineSNP50 BeadChip with 54,241 markers. After application of different filtering criteria, 45,009 informative markers remained for the following analyses. A combined linkage disequilibrium and linkage analysis (cLDLA) was carried out that included body weight, height at the withers, gender and litter size as fixed effects in the linear model of the variance component analysis.

The cLDLA resulted in a maximum likelihood ratio test statistic (LRT) value of $LRT = 16.134$ at position 37.284.948 bp on OAR11, which was only slightly below the genome-wide significance threshold of $LRT = 16.629$ but clearly exceeded the chromosome-wide significance threshold of $LRT = 9.490$. Within the confidence interval of this peak, *HOXB13* was identified as an important potential candidate gene due to its close physical position to the LRT maximum and its influence on tail length in mice. However, *Hox* genes are distributed in paralogous clusters across different chromosomes and impairment of one *Hox* gene can be compensated by its paralogous copies. Furthermore, tail length is probably a polygenic trait and may thus be influenced by different genes in a complex way. To verify the LRT maxima and, in the best possible case, to exceed the genome-wide significance threshold, additional animals with extremely short and long tails should be phenotyped, genotyped and subjected to the cLDLA. However, the results of this study build a solid basis for comparable analyses of sequence data of short- and long-tailed sheep and mouflons.

8 Literaturverzeichnis

- Andersson L. (2001)** Genetic dissection of phenotypic diversity in farm animals. *Nature Reviews Genetics* 2: 130-8.
- Arias J.A., Keehan M., Fisher P., Coppieters W., Spelman R. (2009)** A high density linkage map of the bovine genome. *BMC Genetics* 10: 18-29.
- Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) - Institut für Tierzucht (2019)** Zucht auf Hornlosigkeit beim Fleckvieh. <https://www.lfl.bayern.de/itz/rind/025175/>. Abgerufen am 06. August 2019.
- Beddington R.S.P., Rashbass P., Wilson V. (1992)** Brachyury-a gene affecting mouse gastrulation and early organogenesis. *Development Supplement*: 157-65.
- Behrens H., Ganter M., Hiepe T. (2001)** Lehrbuch der Schafkrankheiten. 4. Auflage. Parey Buchverlag, Berlin
- Berger D.K., Carstens M., Korsman J.N., Middleton F., Kloppers F.J., Tongoona P., Myburg A.A. (2014)** Mapping QTL conferring resistance in maize to gray leaf spot disease caused by *Cercospora zeina*. *BMC Genetics* 15: 60-70.
- Bickeböller H., Fischer C. (2007)** Einführung in die Genetische Epidemiologie. 1. Auflage. Springer-Verlag Berlin Heidelberg
- Binois A. (2016)** To cut a long tail short: The tail-docking and gelding of lambs in Western Europe. A confrontation of archaeological and historical sources. *Argos* 54: 132-9.
- Bjørnland T., Bye A., Ryeng E., Wisløff U., Langaas M. (2017)** Improving power of genetic association studies by extreme phenotype sampling: a review and some new results. arXiv:1701.01286
- Bland J.M., Altman D.G. (1995)** Multiple significance tests: the Bonferroni method. *BMJ* 310: 170.
- Bohte-Wilhelmus D.I., De Haas Y., Veerkamp R.F., Windig J.J. (2010)** Genetic selection as alternative to tail docking in Hampshire Down and Clun Forest. *World Congress on Genetic Applied to Livestock Production* 9. Leipzig. 1-6.
- Botstein D., White R.L., Skolnick M., Davis R.W. (1980)** Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics* 32: 314-31.
- Branford Oltenacu E.A., Boylan W.J. (1974)** Inheritance of tail length in crossbred Finnsheep. *The Journal of Heredity* 65: 331-4.
- Browning B.L., Browning S.R. (2009)** A unified approach to genotype imputation and haplotype-phase inference for large data sets of trios and unrelated individuals. *The American Journal of Human Genetics* 84: 210-23.
- Browning B.L., Zhou Y., Browning S.R. (2018)** A one-penny imputed genome from next-generation reference panels. *The American Journal of*

Human Genetics 103: 338-48.

Browning S.R., Browning B.L. (2007) Rapid and accurate haplotype phasing and missing-data inference for whole-genome association studies by use of localized haplotype clustering. *The American Journal of Human Genetics* 81: 1084-97.

Browning S.R. (2008) Missing data imputation and haplotype phase inference for genome-wide association studies. *Human Genetics* 124: 439-50.

Browning S.R., Browning B.L. (2011) Haplotype phasing: Existing methods and new developments. *Nature Reviews Genetics* 12: 703-14.

Buckingham K.J., McMillin M.J., Brassil M.M., Shively K.M., Magnaye K.M., Cortes A., Weinmann A.S., Lyons L.A., Bamshad M.J. (2013) Multiple mutant T alleles cause haploinsufficiency of Brachyury and short tails in Manx cats. *Mammalian Genome* 24: 400-14.

Buddecke E. (2002) Molekulare Medizin. Eine systematische Einführung. 1. Auflage. ecomed, Landsberg/Lech

Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) (2018) Debatte zur Ferkelkastration. <https://www.bmel.de/DE/Tier/Tierschutz/texte/Ferkelkastration201811.html>. Abgerufen am 27. September 2019.

Bundestierärztekammer (BTK) (2017) Tierärzte fordern: Mehr Tierschutz in der Nutztierhaltung! Delegierte der Bundestierärztekammer verabschieden Positionspapier. Pressinformation Nr. 16/2017. Arbeitsgemeinschaft der Deutschen Tierärztekammern e. V. Berlin

Carlson C.S., Eberle M.A., Kruglyak L., Nickerson D.A. (2004) Mapping complex disease loci in whole-genome association studies. *Nature* 429: 446-52.

Carter A.H. (1976) Inherited taillessness in sheep. New Zealand Ministry of Agriculture and Fisheries. Annual report of the research division. 44-5.

Casaca A., Nóvoa A., Mallo M. (2016) Hoxb6 can interfere with somitogenesis in the posterior embryo through a mechanism independent of its rib-promoting activity. *Development* 143: 437-48.

Chawengsaksothak K., James R., Hammond V.E., Köntgen F., Beck F. (1997) Homeosis and intestinal tumours in Cdx2 mutant mice. *Nature* 386: 84-7.

Chiffard H., Reinhardt M. (2016) Schwänze kupieren bei Schafen: historische Entwicklung der Verfahren. Verein für Schäfereigeschichte e. V.

Classen-Linke I., Beier H.M. (2001) Die Bedeutung von Homöobox-Genen in der Reproduktion. *Reproduktionsmedizin* 17: 163-9.

Clutton-Brock J. (1999) A natural history of domesticated mammals. 2. Auflage. Cambridge University Press

Coates M.I., Cohn M.J. (1998) Fins, limbs, and tails: outgrowths and axial patterning in vertebrate evolution. *BioEssays* 20: 371-81.

Collins A. (2009) Allelic association: linkage disequilibrium structure and

gene mapping. *Molecular Biotechnology* 41: 83-9.

Condie B.G., Capecchi M.R. (1994) Mice with targeted disruptions in the paralogous genes *hoxa-3* and *hoxd-3* reveal synergistic interactions. *Nature* 370: 304-7.

Cunningham F., Achuthan P., Akanni W., Allen J., Amode M.R., Armean I.M., Bennett R., Bhai J., Billis K., Boddu S., Cummins C., Davidson C., Dodiya K.J., Gall A., Giròn C.G., Gil L., Grego T., Haggerty L., Haskell E., Hourlier T., Izuogu O.G., Janacek S.H., Juettemann T., Kay M., Laird M.R., Lavidas I., Liu Z., Loveland J.E., Marugàn J.C., Maurel T., McMahon A.C., Moore B., Morales J., Mudge J.M., Nuhn M., Ogeh D., Parker A., Parton A., Patricio M., Salam A.I.A., Schmitt B.M., Schuilenburg H., Sheppard D., Sparrow H., Stapleton E., Szuba M., Taylor K., Threadgold G., Thormann A., Vullo A., Walts B., Winterbottom A., Zadissa A., Chakiachvili M., Frankish A., Hunt S.E., Kostadima M., Langridge N., Martin F.J., Muffato M., Perry E., Ruffier M., Staines D.M., Trevanion S.J., Aken B.L., Yates A.D., Zerbino D.R., Flicek P. (2018) Ensembl 2019. *Nucleic Acids Research* 47: D745-D51.

Darvasi A., Soller M. (1992) Selective genotyping for determination of linkage between a marker locus and a quantitative trait locus. *Theoretical and Applied Genetics* 85: 353-9.

De Haas Y., Veerkamp R.F. (2004) Selectie op kortere staarten bij Suffolk schapen. Rapport van ASG. Animal Science Group of Wageningen. Wageningen

Deforest M.E., Basrur P.K. (1979) Malformations and the Manx syndrome in cats. *The Canadian Veterinary Journal* 20: 304-14.

Dennis S.M. (1972) Congenital tail defects in lambs. In: *The Cornell Veterinarian*. Volume 62. Bruner D.W., Ithaca: 568-72

Deschamps J., van Nes J. (2005) Developmental regulation of the Hox genes during axial morphogenesis in the mouse. *Development* 132: 2931-42.

Deter A. (2018) Schwanzkupieren: Die nächste Hürde kommt. topagrar online. <https://www.topagrar.com/schwein/news/schwanzkupieren-die-naechste-huerde-kommt-10122074.html>. Abgerufen am 29. Juli 2019.

Doehner H. (1944) Handbuch der Schafzucht und Schafhaltung. Dritter Band: Haltung, Fütterung, Krankheiten. 1. Auflage. Parey

Drouilhet L., Lecerf F., Bodin L., Fabre S., Mulsant P. (2009) Fine mapping of the *FecL* locus influencing prolificacy in Lacaune sheep. *Animal Genetics* 40: 804-12.

Drouilhet L., Mansanet C., Sarry J., Tabet K., Bardou P., Woloszyn F., Lluch J., Harichaux G., Viguié C., Monniaux D., Loys B., Mulsant P., Fabre S. (2013) The highly prolific phenotype of Lacaune sheep is associated with an ectopic expression of the *B4GALNT2* gene within the ovary. *PLOS Genetics* 9: e1003809.

Economides K.D., Zeltser L., Capecchi M.R. (2003) *Hoxb13* mutations cause overgrowth of caudal spinal cord and tail vertebrae. *Developmental Biology* 256: 317-30.

Ellenberger W., Baum H. (2013) Handbuch der vergleichenden Anatomie der Haustiere. 18. Auflage. Springer-Verlag

Farkas R., Hall M.J.R., Kelemen F. (1997) Wound myiasis of sheep in Hungary. *Veterinary Parasitology* 69: 133-44.

Farnir F., Grisart B., Coppieters W., Riquet J., Berzi P., Cambisano N., Karim L., Mni M., Moisis S., Simon P. (2002) Simultaneous mining of linkage and linkage disequilibrium to fine map quantitative trait loci in outbred half-sib pedigrees: revisiting the location of a quantitative trait locus with major effect on milk production on bovine chromosome 14. *Genetics* 161: 275-87.

Feldmann A., Bietzker U., Mendel C. (2005) Schafrassen der Alpen. 1. Auflage. Gesellschaft zur Erhaltung alter und gefährdeter Haustierrassen e.V. (GEH), Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL), Witzenhausen

Fisher M.W., Gregory N.G., Kent J.E., Scobie D.R., Mellor D.J., Pollard J.C. (2004) Justifying the appropriate length for docking lambs' tails-a review of the literature. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 64. Hamilton. 293-6.

Fisher M.W., Gregory N.G. (2007) Reconciling the differences between the length at which lambs' tails are commonly docked and animal welfare recommendations. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 67. Wanaka. 32-8.

French N.P., Wall R., Morgan K.L. (1994) Lamb tail docking: a controlled field study of the effects of tail amputation on health and productivity. *The Veterinary Record* 134: 463-7.

Fries M. (1851) Handbuch der praktischen Landwirtschaft. II. Band. 1. Auflage. Selbstverlag, Oedheim

Fromental-Ramain C., Warot X., Messadecq N., LeMeur M., Dollé P., Chambon P. (1996) Hoxa-13 and Hoxd-13 play a crucial role in the patterning of the limb autopod. *Development* 122: 2997-3011.

Frommlet F., Bogdan M., Ramsey D. (2016) Phenotypes and Genotypes: The search for Influential Genes. 1. Auflage. Springer-Verlag London, London

Ganter M., Benesch C., Bürstel D., Ennen S., Kaulfuß K.-H., Mayer K., Moog U., Moors E., Seelig B., Spengler D., Strobel H., Tegtmeyer P., Voigt K., Wagner H.W. (2012) Empfehlung für die Haltung von Schafen und Ziegen der Deutschen Gesellschaft für die Krankheiten der kleinen Wiederkäuer, Fachgruppe der DVG, Teil 2. *Tierärztliche Praxis Großtiere* 6: 390-6.

García-Gámez E., Sahana G., Gutiérrez-Gil B., Arranz J.-J. (2012) Linkage disequilibrium and inbreeding estimation in Spanish Churra sheep. *BMC Genetics* 13: 43-53.

Geldermann H. (1975) Investigations on inheritance of quantitative characters in animals by gene markers I. Methods. *Theoretical and Applied Genetics* 46: 319-30.

Geldermann H. (2005) Tier-Biotechnologie. 1. Auflage. Eugen Ulmer

Verlag, Stuttgart

Germershausen C.F. (1789) Das Ganze der Schafzucht. Erster Theil. Leipzig

Gilmour A.R., Gogel B.J., Cullis B.R., Thompson R., Butler D. (2009) ASReml User Guide Release 3.0. VSN International Ltd, Hemel Hempstead

Gluecksohn-Schoenheimer S. (1944) The development of normal and homozygous brachy (T/T) mouse embryos in the extraembryonic coelom of the chick. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 30: 134-40.

Goddard M.E., Hayes B.J. (2009) Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes. *Nature Reviews Genetics* 10: 381-91.

Godwin A.R., Capecchi M.R. (1998) Hoxc13 mutant mice lack external hair. *Genes & Development* 12: 11-20.

Goodman F.R. (2003) Congenital abnormalities of body patterning: embryology revisited. *The Lancet* 362: 651-62.

Graham M.J., Kent J.E., Molony V. (1997) Effects of four analgesic treatments on the behavioural and cortisol responses of 3-week-old lambs to tail docking. *The veterinary journal* 153: 87-97.

Grant C. (2004) Behavioural responses of lambs to common painful husbandry procedures. *Applied Animal Behaviour Science* 87: 255-73.

Graw J. (2006) Genetik. 4. Auflage. Springer-Verlag Berlin Heidelberg

Greeff J.C., Karlsson L.J.E., Schlink A.C. (2015) Inheritance of tail length in Merino sheep. 21st Conference of the Association for the Advancement of Animal Breeding and Genetics. Lorne. 237-40.

Groth J. (2004) Meine Moleküle. Deine Moleküle. Von der molekularen Individualität. 1. Auflage. Rhombos-Verlag, Berlin

Grüneberg H. (1958) Genetical studies on the skeleton of the mouse: XXIII. The development of brachyury and anury. *Journal of Embryology and Experimental Morphology* 6: 424-43.

Gunderson K.L., Steemers F.J., Lee G., Mendoza L.G., Chee M.S. (2005) A genome-wide scalable SNP genotyping assay using microarray technology. *Nature Genetics* 37: 549-54.

Guo X., Wang X., Liang B., Di R., Liu Q., Hu W., He X., Zhang J., Zhang X., Chu M. (2018) Molecular cloning of the B4GALNT2 gene and its single nucleotide polymorphisms association with litter size in Small Tail Han Sheep. *Animals* 8: 160-73.

Hámori D. (1983) Constitutional disorders and hereditary diseases in domestic animals. 1. Auflage. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam

Hannemann R., Bauer B., Ganter M., Strobel H. (2017) Schmerzhafter Eingriffe beim Schaf – Schwanzkupieren. Eine Übersicht. *Tierärztliche Praxis Großtiere* 45: 302-11.

Haworth K., Putt W., Cattanach B., Breen M., Binns M., Lingaas F.,

- Edwards Y.H. (2001)** Canine homolog of the T-box transcription factor T; failure of the protein to bind to its DNA target leads to a short-tail phenotype. *Mammalian Genome* 12: 212-8.
- Hayes B.J., Visscher P.M., McPartlan H.C., Goddard M.E. (2003)** Novel multilocus measure of linkage disequilibrium to estimate past effective population size. *Genome Research* 13: 635-43.
- Herzog A. (2001)** Pareys Lexikon der Syndrome: Erb- und Zuchtkrankheiten der Haus- und Nutztiere. 1. Auflage. Parey, Berlin
- Heuven H.C.M., Bovenhuis H., Janss L.L.G., van Arendonk J.A.M. (2005)** Efficiency of population structures for mapping of Mendelian and imprinted quantitative trait loci in outbred pigs using variance component methods. *Genetics Selection Evolution* 37: 635-55.
- Hickman G.C. (1979)** The mammalian tail: a review of functions. *Mammal Review* 9: 143-57.
- Hopkins W.G. (2000)** Measures of reliability in sports medicine and science. *Sports Medicine* 30: 1-15.
- Hytönen M.K., Grall A., Hédan B., Dréano S., Seguin S.J., Delattre D., Thomas A., Galibert F., Paulin L., Lohi H., Sainio K., André C. (2009)** Ancestral T-Box mutation is present in many, but not all, short-tailed dog breeds. *Journal of Heredity* 100: 236-40.
- Illumina (2015)** Data Sheet: Agrigenomics. OvineSNP50 Genotyping BeadChip. https://www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/datasheet_ovinesnp50.pdf. Abgerufen am 26. Oktober 2018.
- James P.J., Gare D.R., Singh A.W., Clark J.P., Ponzoni R.W., Ancell P.M. (1990)** Studies of the potential for breeding short tail Merinos. *Wool Technology and Sheep Breeding* 38: 106-11.
- James P.J., Ponzoni R.W., Gare D.R., Cockrum K.S. (1991)** Inheritance of short tailedness in South Australian Merinos. Conference of the Association for the Advancement of Animal Breeding and Genetics 9. Melbourne. 404-7.
- James P.J. (2006)** Genetic alternatives to mulesing and tail docking in sheep: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 46: 1-18.
- Jemaa S.B., Ruesche J., Sarry J., Woloszyn F., Lassoued N., Fabre S. (2019)** The high prolificacy of D'man sheep is associated with the segregation of the FecLL mutation in the B4GALNT2 gene. *Reproduction in Domestic Animals* 54: 531-7.
- Jin C., Lan H., Attie A.D., Churchill G.A., Bulutuglo D., Yandell B.S. (2004)** Selective phenotyping for increased efficiency in genetic mapping studies. *Genetics* 168: 2285-93.
- Johnstone I.L. (1944)** The tailing of lambs: the relative importance of normal station procedures. *Australian Veterinary Journal* 20: 286-91.
- Jordan R.M. (1952)** The description of the No-Tail breed of sheep following forty years of breeding. *Proceedings of the South Dakota Academy of Science* 31. 103-4.

- Kent J.E., Molony V., Graham M.J. (1998)** Comparison of methods for the reduction of acute pain produced by rubber ring castration or tail docking of week-old lambs. *The Veterinary Journal* 155: 39-51.
- Kerslake J.I., Byrne T.J., Behrent M.J., MacLennan G., Martin-Collado D. (2015)** The reasons farmers choose to dock lamb tails to certain lengths, or leave them intact. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 75. Dunedin. 210-4.
- Kiley-Worthington M. (1976)** The tail movements of ungulates, canids and felids with particular reference to their causation and function as displays. *Behaviour* 56: 69-115.
- Kong A., Gudbjartsson D.F., Sainz J., Jonsdottir G.M., Gudjonsson S.A., Richardsson B., Sigurdardottir S., Barnard J., Hallbeck B., Masson G., Shlien A., Palsson S.T., Frigge M.L., Thorgeirsson T.E., Gulcher J.R., K. S. (2002)** A high-resolution recombination map of the human genome. *Nature Genetics* 31: 241-7.
- König H.E., Liebich H.-G. (2012)** Anatomie der Haussäugetiere: Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis. 5. Auflage. Schattauer GmbH, Stuttgart
- Krenn K. (2017)** Ferkelkastration: So wird in EU-Ländern kastriert. *agrarheute*. <https://www.agrarheute.com/tier/schwein/ferkelkastration-so-eu-laendern-kastriert-537546>. Abgerufen am 06. Februar 2019.
- Kunz E., Rothhammer S., Pausch H., Schwarzenbacher H., Seefried F.R., Matiassek K., Seichter D., Russ I., Fries R., Medugorac I. (2016)** Confirmation of a non-synonymous SNP in PNPLA8 as a candidate causal mutation for Weaver syndrome in Brown Swiss cattle. *Genetics Selection Evolution* 48: 21-34.
- Kunz E. (2016)** Feinkartierung und Kandidatengenanalyse des Weaver-Syndroms im Braunvieh. Inaugural-Dissertation. LMU München
- Landegren U., Nilsson M., Kwok P.-Y. (1998)** Reading bits of genetic information: methods for single-nucleotide polymorphism analysis. *Genome Research* 8: 769-76.
- Lander E.S., Botstein D. (1989)** Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121: 185-99.
- Lee S.H., van der Werf J.H.J. (2004)** The efficiency of designs for fine-mapping of quantitative trait loci using combined linkage disequilibrium and linkage. *Genetics Selection Evolution* 36: 145-61.
- Lee S.H., Van der Werf J.H.J. (2006)** Using dominance relationship coefficients based on linkage disequilibrium and linkage with a general complex pedigree to increase mapping resolution. *Genetics* 174: 1009-16.
- Lester S.J., Mellor D.J., Holmes R.J., Ward R.N., Stafford K.J. (1996)** Behavioural and cortisol responses of lambs to castration and tailing using different methods. *New Zealand Veterinary Journal* 44: 45-54.
- Lewis E.B. (1963)** Genes and developmental pathways. *American Zoologist* 3: 33-56.
- Lewontin R.C., Kojima K.I. (1960)** The evolutionary dynamics of complex polymorphisms. *Evolution* 14: 458-72.

Lloyd J., Kessell A., Barchia I., Schröder J., Rutley D. (2016) Docked tail length is a risk factor for bacterial arthritis in lambs. *Small Ruminant Research* 144: 17-22.

Lydekker R. (1912) The sheep and its cousins. 1. Auflage. George Allan & Company, London

Lynch J.J., Hinch G.N., Adams D.B. (1992) The behaviour of sheep: biological principles and implications for production. 1. Auflage. C.A.B. international, Wallingford

March R.E. (1999) Gene mapping by linkage and association analysis. *Molecular Biotechnology* 13: 113-22.

Mason I.L. (1991a) Classification and distribution of sheep breeds. In: Genetic resources of pig, sheep and goat, 1. Auflage. Maijala K. Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam: 179-94

Mason I.L. (1991b) Breed differences in prolificacy of sheep. In: Genetic resources of pig, sheep, and goat, 1. Auflage. Maijala K. Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam: 235-42

Medland S.E. (2013) Quantitative analysis of genes. In: The Oxford Handbook of Quantitative Methods in Psychology. Volume 2: Statistical Analysis, 1. Auflage. Little T.D. Oxford University Press, Oxford

Medugorac I., Graf A., Grohs C., Rothhammer S., Zagdsuren Y., Gladyr E., Zinovieva N., Barbieri J., Seichter D., Russ I., Eggen A., Hellenthal G., Brem G., Blum H., Krebs S., Capitan A. (2017) Whole-genome analysis of introgressive hybridization and characterization of the bovine legacy of Mongolian yaks. *Nature Genetics* 49: 470-8.

Mellor D.J., Murray L. (1989) Effects of tail docking and castration on behaviour and plasma cortisol concentrations in young lambs. *Research in Veterinary Science* 46: 387-91.

Merrell D.J. (1994) The Adaptive Seascape: The Mechanism of Evolution. 1. Auflage. University of Minnesota Press, Minneapolis

Meuwissen T.H.E., Goddard M.E. (2000) Fine mapping of quantitative trait loci using linkage disequilibria with closely linked marker loci. *Genetics* 155: 421-30.

Meuwissen T.H.E., Goddard M.E. (2001) Prediction of identity by descent probabilities from marker-haplotypes. *Genetics Selection Evolution* 33: 605-34.

Meuwissen T.H.E., Karlsen A., Lien S., Olsaker I., Goddard M.E. (2002) Fine mapping of a quantitative trait locus for twinning rate using combined linkage and linkage disequilibrium mapping. *Genetics* 161: 373-9.

Morgan T.H. (1911) Random segregation versus coupling in Mendelian inheritance. *Science* 34: 384.

Müller M.-P. (2016) Molekular-und populationsgenetische Untersuchungen zur Fruchtbarkeit der Rinderrasse Holstein-Friesian. Inaugural-Dissertation. LMU München

Müller M.-P., Rothhammer S., Seichter D., Russ I., Hinrichs D., Tetens J., Thaller G., Medugorac I. (2017) Genome-wide mapping of 10 calving and

fertility traits in Holstein dairy cattle with special regard to chromosome 18. *Journal of Dairy Science* 100: 1987-2006.

Nachman M.W. (2002) Variation in recombination rate across the genome: evidence and implications. *Current Opinion in Genetics & Development* 12: 657-63.

National Center for Biotechnology Information (2019) NCBI Genome Remapping Service.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/tools/remap#tab=asm&src_org=Ovis%20aries&min_ratio=0.5&max_ratio=2.0&allow_locations=true&merge_fragments=true&in_fmt=bed&out_fmt=guess&genome_workbench=true.
Abgerufen am 06.09.2019.

Nicholas F.W. (2003) Introduction to veterinary genetics. 2. Auflage. Blackwell Publishing

Noden D.M., DeLahunta A. (1985) The embryology of domestic animals: Developmental mechanisms and malformations. 1. Auflage. Williams & Wilkins

Pfister K. (2006) Arthropodenbefall bei Wiederkäuern. In: Veterinärmedizinische Parasitologie, 6. Auflage. Schnieder T. Parey, Stuttgart

Pollard J.C., Roos V., Littlejohn R.P. (2001) Effects of an oral dose of acetyl salicylate at tail docking on the behaviour of lambs aged three to six weeks. *Applied Animal Behaviour Science* 71: 29-42.

Powell J.E., Visscher P.M., Goddard M.E. (2010) Reconciling the analysis of IBD and IBS in complex trait studies. *Nature Reviews Genetics* 11: 800-5.

Promega Corporation (2012) Technical Manual: ReliaPrep™ Blood gDNA Miniprep System. Promega. Madison

Pulst S.M. (1999) Genetic linkage analysis. *Archives of neurology* 56: 667-72.

Rocha J., Chen S., Beja-Pereira A. (2011) Molecular evidence for fat-tailed sheep domestication. *Tropical Animal Health and Production* 43: 1237-43.

Roesicke E., Planer J. (2016) Schaf- und Ziegenrassen vorgestellt. Bundeszentrum für Ernährung. <https://www.bzfe.de/inhalt/merinoschafe-3224.html>. Abgerufen am 19. Oktober 2018.

Rothammer S., Kremer P.V., Bernau M., Fernandez-Figares I., Pfister-Schär J., Medugorac I., Scholz A.M. (2014) Genome-wide QTL mapping of nine body composition and bone mineral density traits in pigs. *Genetics Selection Evolution* 46: 68-78.

Ryder M.L. (1983) Sheep and man. 1. Auflage. Duckworth, London

Samraus H.H. (2011) Farbatlas Nutztierassen. 7. Auflage. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart

Schlötterer C. (2004) The evolution of molecular markers—just a matter of fashion? *Nature reviews genetics* 5: 63-9.

Scobie D.R., O'Connell D. (2002) Genetic reduction of tail length in New Zealand sheep. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal*

Production 62. Palmerston North. 195-8.

Scobie D.R., O'Connell D., Morris C.A., Hickey S.M. (2007) A preliminary genetic analysis of breech and tail traits with the aim of improving the welfare of sheep. *Australian Journal of Agricultural Research* 58: 161-7.

Sen S., Johannes F., Broman K.W. (2009) Selective genotyping and phenotyping strategies in a complex trait context. *Genetics* 181: 1613-26.

Shelton M. (1977) Studies on tail length of Rambouillet and Mouflon sheep. *The Journal of Heredity* 68: 128-30.

Solignac M., Mougel F., Vautrin D., Monnerot M., Cornuet J.-M. (2007) A third-generation microsatellite-based linkage map of the honey bee, *Apis mellifera*, and its comparison with the sequence-based physical map. *Genome Biology* 8: R66.

Storch V., Welsch U., Wink M. (2013) *Evolutionsbiologie*. 3. Auflage. Springer-Verlag Berlin Heidelberg

Sutherland M.A., Tucker C.B. (2011) The long and short of it: A review of tail docking in farm animals. *Applied Animal Behaviour Science* 135: 179-91.

Swan R.A., Chapman H.M., Hawkins C.D., Howell J.M., Spalding V.T. (1984) The epidemiology of squamous cell carcinoma of the perineal region of sheep: abattoir and flock studies. *Australian Veterinary Journal* 61: 146-51.

Tautz D. (1989) Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research* 17: 6463-71.

Teare M.D., Santibañez Koref M.F. (2014) Linkage analysis and the study of Mendelian disease in the era of whole exome and genome sequencing. *Briefings in Functional Genomics* 13: 378-83.

Terwilliger J.D., Göring H.H.H. (2009) Gene mapping in the 20th and 21st centuries: Statistical methods, data analysis, and experimental design. *Human Biology* 81: 663-728.

van Ooijen J.W. (1992) Accuracy of mapping quantitative trait loci in autogamous species. *Theoretical and Applied Genetics* 84: 803-11.

Vandegraaff R. (1976) Squamous-cell carcinoma of the vulva in Merino sheep. *Australian Veterinary Journal* 52: 21-3.

Vereinigte Informationssysteme Tierhaltung w. V. (vit) (2017) Geschäftsbericht 2016/17. Vereinigte Informationssysteme Tierhaltung w. V. Verden

Vereinigung Deutscher Landesschafzuchtverbände e. V. (VDL) (2005) Rasse- und Zuchtzielbeschreibung Merinoschafe, Merinolandschaf. https://www.schafe-sind-toll.com/app/download/7872457293/Merinolandschaf_03.pdf?t=1412084198. Abgerufen am 07. Februar 2019.

Vignal A., Milan D., SanCristobal M., Eggen A. (2002) A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics Selection Evolution* 34: 275-305.

Visscher P.M., Goddard M.E. (2004) Prediction of the confidence interval

of quantitative trait loci location. Behavior genetics 34: 477-82.

Von Korn S. (1992) Schafe in Koppel-und Hütelhaltung. 1. Auflage. Eugen Ulmer GmbH & Co., Stuttgart

Von Korn S. (2016) Nicht-kurative Eingriffe bei Schafen und Ziegen. Züchtungskunde 88: 445-55.

Von Senden genannt Haverkamp H., Brandt H.R., Erhardt G. (2015) Variation in der Schwanzlänge beim Merinolandschaf als Basis für züchterische Aktivitäten. Vortragstagung der Deutschen Gesellschaft für Züchtungskunde e. V. und der Gesellschaft für Tierzuchtwissenschaften e. V. Berlin. C4.

Waghorn G.C., Gregory N.G., Todd S.E., Wesselink R. (1999) Dags in sheep; a look at faeces and reasons for dag formation. Proceedings of the New Zealand Grassland Association 61. Hawkes Bay. 43-9.

Weber J.L., May P.E. (1989) Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. American journal of human genetics 44: 388-96.

Weber J.L., Wong C. (1993) Mutation of human short tandem repeats. Human Molecular Genetics 2: 1123-8.

Weller J.I. (2001) Quantitative trait loci analysis in animals. 1. Auflage. CABI Publishing, Wallingford

Wellik D.M. (2007) Hox patterning of the vertebrate axial skeleton. Developmental Dynamics 236: 2454-63.

Wellik D.M. (2009) Hox genes and vertebrate axial pattern. In: Current topics in developmental biology, 1. Auflage. Pourquiè O. Elsevier Inc. Academic Press, Burlington

Willam A., Simianer H. (2017) Tierzucht. 2. Auflage. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart

Wissenschaftliche Beirat Agrarpolitik beim BMEL (2015) Wege zu einer gesellschaftlich akzeptierten Nutztierhaltung. Gutachten. Berlin

Worku M. (2015) Goat Genetics and Genomic Progress. In: Molecular and Quantitative Animal Genetics, 1. Auflage. Khatib H. John Wiley & Sons, Hoboken

Xiong M., Jin L. (2000) Combined linkage and linkage disequilibrium mapping for genome screens. Genetic Epidemiology 19: 211-34.

Xu X., Sun X., Hu X.-S., Zhuang Y., Liu Y.-C., Meng H., Miao L., Yu H., Luo S.-J. (2016) Whole genome sequencing identifies a missense mutation in HES7 associated with short tails in Asian domestic cats. Scientific Reports 6: 31583-91.

Yoo D., Kim K., Kim H., Cho S., Kim J.N., Lim D., Choi S.-G., Choi B.-H., Kim H. (2017) The genetic origin of short tail in endangered Korean dog, DongGyeonggi. Scientific reports 7: 10048-57.

Young T., Rowland J.E., van de Ven C., Bialecka M., Novoa A., Carapuco M., van Nes J., de Graaff W., Duluc I., Freund J.-N. (2009) Cdx and Hox genes differentially regulate posterior axial growth in mammalian embryos. Developmental Cell 17: 516-26.

Zeltser L., Desplan C., Heintz N. (1996) Hoxb-13: a new Hox gene in a distant region of the HOXB cluster maintains colinearity. *Development* 122: 2475-84.

Zhao L.P., Quiaoit F., Aragaki C., Hsu L. (1999) An efficient, robust and unified method for mapping complex traits (III): Combined linkage/linkage-disequilibrium analysis. *American Journal of Medical Genetics* 84: 433-53.

Zhi D., Da L., Liu M., Cheng C., Zhang Y., Wang X., Li X., Tian Z., Yang Y., He T. (2018) Whole genome sequencing of Hulunbuir Short-Tailed Sheep for identifying candidate genes related to the short-tail phenotype. *G3. Genes, Genomes, Genetics* 8: 377-83.

9 Anhang

Anhang 1: Publikation in *Small Ruminant Research*



Morphometric measurements in lambs as a basis for future mapping studies

Kim Eck^{a,b}, Elisabeth Kunz^a, Christian Mendel^c, Gesine Lühken^d, Ivica Medugorac^{a,*}

^a Population Genomics Group, Department of Veterinary Sciences, LMU Munich, Veterinaerstr. 13, 80539 Munich, Germany

^b Tierzuchtforchung e.V. München, Senator-Gerauer-Str. 23, 85586 Poing, Germany

^c Institute for Animal Breeding, Bavarian State Research Center for Agriculture, Prof.-Dürrwaechter-Platz 1, 85586 Poing, Germany

^d Department of Animal Breeding and Genetics, Justus Liebig University of Gießen, Ludwigstr. 21a, 35390 Giessen, Germany

ARTICLE INFO

Keywords:

Sheep
Lambs
Docking
Tail length
Morphometric measurements
Animal welfare

ABSTRACT

Tail docking in young lambs of long-tailed breeds has become a regular practice worldwide, but nowadays animal welfare also plays an increasingly important role in society. Consequently, a genetic solution to breed for a shorter tail is needed, especially in long-tailed breeds like Merino, one of the most important and most numerous sheep breeds worldwide. A serious genetic analysis of the natural diversity in tail length should consider the autocorrelation of tail length and individual body size. This study aimed to compare different morphometric measurements and their suitability as a correction factor for individual body size and to identify an optimal time point for phenotyping of the main and correlated traits. For this purpose, a total of 88 Merinolandschaf lambs, the most common German Merino variety, were measured weekly during their first eight weeks of life. Besides absolute tail length itself, the following morphometric traits were phenotyped: body weight, withers height, back height, length of the body measured with a rule, length of the body measured with a measuring tape, length of the metacarpus, length of the femur and length from the anus to the hock. Additionally, the length of the tail was scored according to the Ovicap scoring scheme, gender and litter were identified and the tail wound in lambs that had to be docked due to injuries was examined. A high correlation (0.854) between initial tail length and the length at weaning confirmed that predictions about the development of tail length from data at birth should be possible. For correcting tail length for individual body size, withers height and body weight in five-week-old lambs proved most suitable. Withers height and body weight were selected for their high coefficient of determination in the linear model, their high correlation with tail length and the good retest reliability. The advantages of phenotyping and genotyping five-week-old lambs are easier handling compared to adult sheep, the ability to detect phenocopies produced by docking in case of tail injuries, a high coefficient of determination in the linear regression model and a good retest reliability at this time point.

1. Introduction

Docking of tails in young lambs of long-tailed breeds is a common procedure in sheep husbandry worldwide. It is primarily practiced to reduce the accumulation of dags on the tail and hindquarters and thus to prevent the risk of flystrike (Sutherland and Tucker, 2011). However, there are also negative side effects like the risk for prolapse of the rectum and a predisposition to cancer of the tail region, mainly the vulva (Fisher et al., 2004).

With society successively shifting towards moderate biocentrism and the thus growing importance of animal welfare, more and more invasive animal husbandry procedures that cause pain and distress are banned by law. In Finland, Norway, Estonia, and Sweden, for example, tail docking in lambs is already forbidden with the exception of docking

due to veterinary indication (Hannemann et al., 2017). In the Netherlands, three long-tailed English breeds have been temporarily excluded from the docking ban under the condition that an effective breeding program for shorter tails is established (Bohte-Wilhelmus et al., 2010). According to the German Animal Welfare Act, tail docking without anaesthesia is still legal in lambs younger than 8 days, although it has been well shown in several studies that this intervention is painful for lambs (Graham et al., 1997; Grant, 2004; Kent et al., 1998; Lester et al., 1996). However, also currently more liberal laws are subject to change and a future docking ban is possible, as can be best seen by the example of piglet castration. Although farmers and the pharmaceutical industry were not able to provide a practicable and marketable alternative for the 'classical' castration of piglets, the German government wanted to ban the castration of piglets without anaesthesia as of January 1st, 2019

* Corresponding author.

E-mail addresses: Kim.Eck@gen.vetmed.uni-muenchen.de (K. Eck), Elisabeth.Kunz@gen.vetmed.uni-muenchen.de (E. Kunz), Christian.Mendel@fl.bayern.de (C. Mendel), Gesine.Luehken@agr.uni-giessen.de (G. Lühken), i.medugorac@lmu.de (I. Medugorac).

<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.04.007>

Received 7 November 2018; Received in revised form 15 March 2019; Accepted 8 April 2019
0921-4488/ © 2019 Elsevier B.V. All rights reserved.

Please cite this article as: Kim Eck, et al., Small Ruminant Research, <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.04.007>

and only postponed it to January 1st 2021 in the last minute (Bundesrat, 2018). This example clearly emphasizes the urgent and timely need for non-invasive genetic alternatives to painful practices in animal husbandry in general and to tail docking in sheep farming in particular.

Breeders in Australia and New Zealand have already tried to reduce tail length in sheep with classical breeding methods. However, they experienced two main problems: On the one hand, breeding for short tails led to reduced vitality of embryos that are homozygous for some putative alleles causing a shorter tail (Carter, 1976) and on the other hand, it led to a higher incidence of rear end abnormalities (James et al., 1991). A link between short tail phenotypes and genetic disorders has also been observed in other species, for example malformations and the Manx syndrome in cats associated with taillessness (DeForest and Basrur, 1979) and taillessness as a lethal anomaly with embryonic mortality in mice and dogs (Hámori, 1983).

Besides these vitality problems in species and breeds where a short tail is the exception and long tails are the rule, it should also be mentioned that the short tail is an ancestral phenotype of all domesticated sheep. This is due to the fact that the wild ancestor of domesticated sheep, the Asiatic Mouflon, is short-tailed (Shelton, 1977). Moreover, some Nordic sheep breeds like the Finnish Landrace and Romanov with naturally short tails are amongst the most fertile breeds in the world (Mason, 1991). Consequently, it could be a possible alternative to crossbreed long-tailed breeds like Merinolandschaf with short-tailed breeds like Finnsheep that naturally have a short tail without negative side effects. Greeff et al. (2015) showed a high heritability of 0.58 for tail length in Merinos, and an even higher value of 0.77 was reported for Finnish Landrace sires (Branford Oltenacu and Boylan, 1974). Scobie and O'Connell (2002) studied crossbreeds of short-tailed Finnish Landrace and long-tailed Cheviot sheep and concluded that an increasing proportion of Finnish Landrace leads to a decrease in tail length. However, the problem with introgression of a shorter tail from foreign breeds is a deficit in breed characteristics and a reduction of some important production traits in the highly selected long-tailed sheep breeds.

To breed for a shorter tail within breeds without side effects and thus make tail docking unnecessary, the genes that determine tail length need to be identified first. In the Merinolandschaf breed, which is the most common breed in Germany (Roesicke and Planer, 2016) and genetically related to the worldwide Merino breed group (Kijas et al., 2012), there is natural diversity in tail length, like it was also shown by James et al. (1991) for Australian Merinos. This natural spectrum of tail lengths can be analyzed with molecular genetic methods to map the underlying gene(s) and possibly identify causal mutations. The first step in this endeavor will be to genotype Merinolandschaf animals from both sides of the phenotype spectrum, i.e. animals with especially long or short tails. Subsequently, diverse analyses will be conducted to unravel the genetic basis of tail length with special attention on vitality and fertility.

In order to consider some autocorrelations between tail length and body size in a mixed linear model for mapping (e.g. like in Rothhammer et al. (2014); Kunz et al. (2016); Medugorac et al. (2017) and Müller et al. (2017)), tail length needs to be corrected for some body frame measurements. Previous research used birth weight (Branford Oltenacu and Boylan, 1974), body weight (Carter, 1976; Greeff et al., 2015; James et al., 1990), age (Carter, 1976), total body length (Shelton, 1977), spinal length (Greeff et al., 2015) or the "length from the anus to the hock, on a leg straightened and held perpendicular to the spine" (Scobie and O'Connell, 2002) as correction parameters. However, none of these studies have thoroughly investigated and compared different morphometric measurements for their suitability as a correction factor and identified the optimal time point for measurements. This study aimed to answer these questions and to identify a suitable correction factor as the basis for future mapping studies.

2. Material and methods

2.1. Experimental design

In this study, different body measurements were taken in two cohorts of Merinolandschaf lambs once per week from birth until weaning, i.e. for a period of eight weeks. The lambs were located on a farm in Lower Bavaria with no custom of tail docking and phenotyping was performed by the same qualified staff.

The first cohort originally consisted of 50 lambs, 43 of which were born on two successive days in November 2017. To increase group size, seven lambs that were born one week later were added and handled in the same way. From this entire group, 43 lambs could be measured until an age of eight weeks, while seven lambs were excluded from the first cohort, because one died prematurely and six suffered tail injuries. According to Merinolandschaf breeders, the main reason for these injuries is enhanced motherliness with ewes excessively licking their lambs after birth and eating parts of the placenta, which leads to accidental chewing on the tail. The breeders' opinion is supported by the fact that all tail injuries that were observed in this study happened in the first week after birth. However, the direct observation of such behavior was not documented by the breeders or by this study.

The second cohort, born on two successive days in February 2018, was reduced from primarily 51 lambs to 45 lambs until an age of eight weeks due to the same reasons as mentioned above (four lambs died, two lambs had to be tail docked).

Of the entire group of 88 lambs, 37 were male and 51 female. Furthermore, this group consisted of 21 single-born and 67 multiple-born lambs that were distributed between the genders as follows: 9 male singletons (m), 12 female singletons (f), 11 lambs from male twin pairs (mm), 21 lambs from female twin pairs (ff) and 35 lambs from mixed-sex pairs (mf). All lambs in our measuring group were suckled by their mothers.

The total of 88 randomly selected Merinolandschaf lambs were measured weekly for the following morphometric traits: tail length (TL), body weight (BW), withers height (WH), back height (BH) and length of the body measured with a rule (BL_r). Four additional measurements were only measured in the first cohort of 43 lambs: length of the body measured with a measuring tape (BL_t), length of the metacarpus (ML), length of the femur (FL) and length from the anus to the hock (AH). Since an interim analysis of the data collected in the first cohort revealed a high inaccuracy of the last four measurements, we decided that there is no need to pursue these in the second cohort.

2.2. Morphometric measurements

Table 1 summarizes the measuring procedures for each morphometric trait. BW was taken with an infant scale up to a weight of 20 kg and with standard scales for heavier lambs. WH and BH were taken with a metal measuring device that was originally intended to measure withers height, body length and chest width of dogs in dog sports. BL was measured twice, once with the metal measuring device and once with a measuring tape. TL was measured with a custom-made wooden board with a groove for the tail in the middle and a scale for metering the tail length at the side. The board and thus the tail were held parallel to the ground during measurements. Tail length was also scored according to the OviCap scheme (Hager et al., 2017), which is part of the OviCap collection system for estimation of diverse breeding values by the German sheep breeding associations (Vereinigung Deutscher Landesschaftszuchtverbände e.V. (VDL)). To measure the length from the anus to the hock, Scobie and O'Connell (2002) recommended holding the straightened leg perpendicular to the spine. We modified this technique by holding the right leg straightened and parallel to the tail on the measuring board since the lambs did not stand still enough to

Table 1

Measuring procedures of nine traits weekly measured in growing lambs from birth to the eighth week of life.

Morphometric trait	Measuring instrument	Measuring points	Measuring cohort
TL	custom-made wooden board	from the anus to the tip of the tail	1, 2
BW	infant scale, standard scales		1, 2
WH	metal measuring device from dog sports	from the floor to the highest point of the withers	1, 2
BH	metal measuring device	from the floor to the highest point of the sacral bone	1, 2
BL _r	metal measuring device	from the foremost point of the sternum to the ischial tuberosity	1, 2
BL _t	measuring tape	from the foremost point of the sternum to the ischial tuberosity	1
ML	measuring tape	from the tuberosity of the metacarpal bone to the sagittal crest	1
FL	measuring tape	from the tip of the greater trochanter to the lateral condyle of the femur	1
AH	custom-made wooden board	holding the right leg straightened and parallel to the tail on the measuring board and measuring from the anus to tuber of the calcaneus	1

be able to measure this size correctly. We also examined the tail wound in lambs that had to be docked due to injuries weekly. Additionally assessed characteristics were gender and litter of the lambs.

2.3. Statistical treatment of data

To evaluate the reproducibility of the morphometric measurements at different ages, repeated measurements of TL, WH, BH and BL_r were performed in the second cohort (45 lambs) every week. For this purpose, after measuring the whole group first, ten lambs were randomly selected for a second measuring by the same person who had taken the first measurements. The typical error that occurred between the first and the second measurements in the same lamb on the same day was then calculated according to Hopkins (2000).

To compare the measurements with regard to gender and litter, a *t*-test was performed with two groups each (male and female; singletons and multiples). Furthermore, to differentiate between males and females from single and twin births, an analysis of variance (ANOVA) with the following five groups was performed: male singletons (m), female singletons (f), male twin pairs (mm), female twin pairs (ff) and mixed pairs (mf).

To investigate the relationship between TL and the other morphometric measurements, Pearson correlations were calculated and a regression analysis was performed in R for each week of life. For the linear regression analysis, we used 19 models. To find the most suitable regression model, a forward variable selection method was used in which an additional variable was added to the model with the highest coefficient of determination in each step. For comparing the models, the coefficients of determination were averaged over a period of seven weeks for all models that contained BW and over a period of eight weeks for all models without BW, and these values were considered in the comparison.

3. Results

Initial TL varied from 16.40 to 27.70 cm with the average at 22.00 cm, a standard deviation (SD) of 2.23 cm and a coefficient of variation (CV) of 10.12%. TL at weaning varied from 25.00 to 41.40 cm with the average at 33.72 cm (SD = 3.55 cm, CV = 10.53%). The average growth rate of the tail during the whole measuring period was 0.21 cm (± 0.04 cm) per day with the highest growth rate of 0.29 cm per day in the first week of life and the lowest growth rate of 0.16 cm in the eighth week (Fig. 1). The retest reliability of these measurements was high with a typical error (Hopkins, 2000) of 0.21 cm and a coefficient of variation of 0.72% in the repeated measurements.

Initial BW varied from 3.50 to 7.50 kg with the average at 5.53 kg (± 0.81 kg, 14.68%). Due to a technical error in week eight of the second measuring cohort, records of BW at weaning were not reliable. The BW in the seventh week varied from 13.90 to 29.40 kg with the average at 21.13 kg (± 3.14 kg, 14.84%).

Initial WH varied from 35.50 to 45.50 cm with the average at

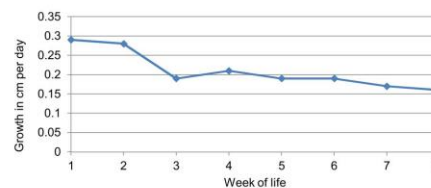


Fig. 1. Average growth of TL in cm per day.

40.55 cm (± 2.18 cm, 5.39%). WH at weaning varied from 52.20 to 63.00 cm with the average at 57.58 cm (± 2.26 cm, 3.93%). The average growth rate for WH during the eight weeks was 0.30 cm (± 0.03 cm) per day with the highest growth rate of 0.48 cm per day in the first week and the lowest growth rate of 0.22 cm in the fourth week, followed by 0.23 cm in the eighth week. The typical error of the repeated measurements of WH was 0.70 cm on average with a coefficient of variation of 1.36%.

Comparing the development of TL and WH, an allometric growth pattern was observed that can be described by the equation $TL_i = -5.323 + 0.677 \times WH_i + e_i$ (Fig. 2) where e_i is the random error for lamb i .

Initial BH varied from 36.20 to 45.60 cm with the average at 40.26 cm (± 2.20 cm, 5.47%). BH at weaning varied from 52.00 to 63.00 cm with the average at 57.82 cm (± 2.49 cm, 4.30%). The average growth rate during the eight weeks was 0.31 cm (± 0.04 cm) per day with a maximum of 0.43 cm per day in the first week and a minimum of 0.24 cm in the fourth week, followed by 0.25 cm in the eighth week. Repeated measurements had a typical error of 0.88 cm and a coefficient of variation of 1.70%.

Initial BL_r varied from 28.00 to 40.00 cm with the average at 34.39 cm (± 2.44 cm, 7.10%). BL_r at weaning varied from 51.50 to 64.60 cm with the average at 57.53 cm (± 2.95 cm, 5.13%). The average growth rate during the eight weeks was 0.41 cm (± 0.05 cm) per day with a maximum of 0.54 cm per day in the first and second week and a minimum of 0.33 cm in the fourth week. In the repeated

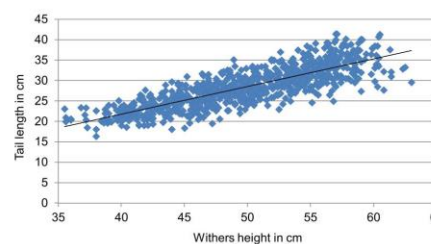


Fig. 2. Development of TL against WH in cm.

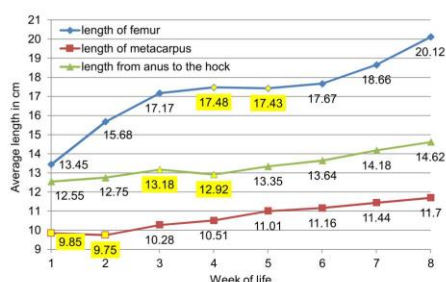


Fig. 3. Average FL, ML and AH in cm.

measurements, there was a typical error of 1.09 cm and a coefficient of variation of 2.18% considered over the period of eight weeks.

BLt depends strongly on body posture during measurements and was measured only in the first cohort due to poor practicability in young lambs.

Palpation of the bony landmarks for FL and ML became increasingly difficult with increasing age of the lambs due to muscle and fat gain. Measurements of AH depended on the extension of the joints and also became more difficult with increasing strength of the lambs. Consequently, the average values of FL, ML and AH did not increase for all subsequent measurement weeks. For example, the average FL decreased by 0.05 cm in the fifth week, the average ML decreased by 0.1 cm in the second week, and AH decreased by 0.26 cm in the fourth week (Fig. 3). Thus, additional to BLt, we considered also these three morphometric measurements as less reliable and measured them only in the first cohort.

Comparing the measurements for TL, BW and WH at different time points in relation to gender, the following results were obtained in the *t*-test:

Measurements of TL were higher for female lambs ($n = 51$) than for male lambs ($n = 37$) at birth and at weaning (Table 2), but these differences were not significant ($P > 0.05$).

Differences in birth weight and weight at weaning between male and female lambs were also not significant ($P > 0.05$). Both at birth and weaning, the male lambs were heavier than the female lambs (Table 2).

The initial average WH was significantly higher in male lambs than in female lambs (Table 2) ($P < 0.05$). At weaning, this difference was still present with male lambs being still taller than female lambs but without significance ($P > 0.05$).

With regard to the proportion TL/WH, the initial proportion for female lambs was significantly higher than for male lambs (Table 2) ($P < 0.01$). At weaning, measurements of WH in females were still smaller and measurements of TL were still higher than in males, so their TL/WH proportion was still higher, but this was not significant in the *t*-test ($P > 0.05$). For both genders, the proportion TL/WH increased continuously but at a lower rate in male lambs compared with female lambs (Table 3).

Comparing differences in measurements with regard to litter, the *t*-test gave the following results:

The average initial TL was higher for singletons ($n = 21$) than for multiples ($n = 67$) (Table 2), but this was not significant ($P > 0.05$). At weaning, TL in singletons was still higher than in multiples, this difference being significant ($P < 0.05$).

The average BW was significantly higher in singletons than in multiples (Table 2) at birth ($P < 0.05$) and at weaning ($P < 0.001$).

Both the initial and weaning measurements of WH were significantly higher in singletons than in multiples (Table 2; $P < 0.05$ and $P < 0.001$, respectively).

With regard to the proportion TL/WH, the initial proportion as well as the proportion at weaning was higher for singletons than for multiples (Table 2) but without significance ($P > 0.05$).

Considering gender and litter simultaneously in an ANOVA procedure with five groups (m, f, mm, ff, mf), the differences in TL between the groups were significant ($P < 0.05$) with female singletons having the longest tails followed by female twin pairs, mixed pairs, male singletons and male twin pairs (Table 4). Differences in TL at weaning were still significant ($P < 0.01$) with f having the longest tails followed by m, ff, mf and mm.

Differences in initial BW were also significant in the ANOVA procedure ($P < 0.01$) with m being the heaviest followed by f, mf, ff and mm (Table 4). At weaning, these differences were even highly significant ($P < 0.001$) with m being the heaviest, followed by f, mf, mm and ff.

Considering WH in the ANOVA procedure, the differences between the five groups were also significant at birth ($P < 0.05$) with m being the tallest followed by f, mf, mm and ff (Table 4). These differences were still significant ($P < 0.01$) at weaning with m being still the tallest followed by f, mf, ff and mm.

Differences in the proportion TL/WH between the five groups at birth and at weaning were not significant ($P > 0.05$) in the ANOVA procedure.

The Pearson correlations between TL and the different morphometric measurements, considered over the period of eight weeks, were the highest for WH, BLr and BW (over seven weeks) with 0.411 followed by BH (0.388) (Table 5).

Table 2

Comparison of measured values for TL, BW, WH and TL/WH between males and females and singletons and multiples.

		Males (n = 37)	Females (n = 51)	Singletons (n = 21)	Multiples (n = 67)
TL in cm (\pm SD in cm, CV in %)	Birth	21.58 (\pm 2.30, 10.66)	22.31 (\pm 2.14, 9.60)	22.76 (\pm 2.68, 11.77)	21.77 (\pm 2.03, 9.33)
	Weaning	33.33 (\pm 3.36, 10.07)	34.01 (\pm 3.69, 10.85)	35.27 (\pm 3.35, 9.51)	33.24 (\pm 3.49, 10.51)
BW in kg (\pm SD in kg, CV in %)	Birth	5.66 (\pm 0.93, 16.40)	5.44 (\pm 0.71, 13.09)	5.90 (\pm 0.91, 15.49)	5.41 (\pm 0.75, 13.79)
	Weaning	21.90 (\pm 3.28, 15.00)	20.59 (\pm 2.94, 14.27)	23.90 (\pm 3.11, 13.03)	20.26 (\pm 2.61, 12.89)
WH in cm (\pm SD in cm, CV in %)	Birth	41.16 (\pm 2.41, 5.86)	40.12 (\pm 1.91, 4.76)	41.46 (\pm 2.32, 5.59)	40.27 (\pm 2.08, 5.16)
	Weaning	58.09 (\pm 2.43, 4.18)	57.21 (\pm 2.08, 3.64)	59.10 (\pm 2.06, 3.49)	57.11 (\pm 2.12, 3.72)
TL/WH (\pm SD, CV in %)	Birth	0.525 (\pm 0.051, 9.81)	0.556 (\pm 0.050, 8.92)	0.550 (\pm 0.061, 11.13)	0.541 (\pm 0.049, 9.03)
	Weaning	0.574 (\pm 0.053, 9.28)	0.594 (\pm 0.058, 9.73)	0.597 (\pm 0.053, 8.95)	0.582 (\pm 0.057, 9.72)

Table 3
Proportions TL/WH depending on gender.

		weeks								
		0	1	2	3	4	5	6	7	8
Male	TL/WH	0.525	0.533	0.547	0.549	0.564	0.566	0.570	0.568	0.574
	SD	0.051	0.055	0.050	0.049	0.054	0.052	0.055	0.052	0.053
	CV (in %)	9.81	10.35	9.16	8.85	9.55	9.16	9.72	9.09	9.28
Female	TL/WH	0.556	0.557	0.568	0.575	0.587	0.586	0.592	0.593	0.594
	SD	0.050	0.050	0.052	0.053	0.053	0.052	0.056	0.057	0.058
	CV (in %)	8.92	8.90	9.17	9.16	9.04	8.88	9.47	9.63	9.73

The Pearson correlation between initial TL and the length in weeks 1–8 (Table 6) had the highest value in the first week of life. In the second week of life, it changed by 4.45% from 0.943 to 0.901 and later the change was only a decrease by 2% or less per week. Consequently, at weaning in the eighth week of life, there was still a high correlation of 0.854. Compared with the other measurements at weaning, the Pearson correlation of TL was by far the highest over WH (0.663), BH (0.628) and BW (0.611 in the seventh week). The lowest was the correlation of BL_r with 0.404.

Applying the forward variable selection method to determine the most suitable regression model, a total of 19 models containing the six variables WH, BL_r, BW, BH, gender, litter, and gender combined with litter (m, f, mm, ff, mf) alone and in different combinations were evaluated (Table 7). A maximum coefficient of determination of 23.10% (averaged over a period of seven weeks; Table 7) was obtained in model 17, which contained WH, BW, BL_r and the combination of gender and litter, closely followed by models 14 ($R^2 = 22.89\%$) and 15 ($R^2 = 22.77\%$), which contained besides WH and Litter \times Gender only one of the factors BL_r and BW. The inclusion of all variables in the model (Model 19) only led to a drop of the coefficient of determination (Table 7) and was therefore of no advantage.

The tail length scores according to the Ovicap scheme mostly stayed the same during the measuring period. Changes in scoring occurred in 25% of the lambs only during the first three weeks of life. An additional nine borderline cases changed between two of the Ovicap grades almost weekly.

The docking wound healed without any problems in all cases. The tail wound in lambs that were docked in their first week of life due to tail injuries was still visible in the fifth week of life as a little scab. After a healing period of more than five weeks, it became more difficult to see if a tail was docked or if it was naturally short.

4. Discussion

This study aimed to identify suitable morphometric measurements to correct tail length for individual skeletal size. These measurements should correctly record the body frame and have a low typical error in the repeat measurements.

With regard to TL itself, the high Pearson correlation between the measurements in the first week of life and in the eighth week (85.4%) shows that it should be possible to draw conclusions from the length of the tail in the first week about the later length (Table 6). This was also shown in a previous study on Merinolandschaf lambs with a correlation of 83.3% in the 14th week (Von Senden genannt Haverkamp et al., 2015). The measurements of BW, WH, BH and BL_r on the first days of life show significantly lower predictive values for corresponding values at weaning (Table 6) and are thus possibly more influenced by the environment.

Considered over the measuring period of eight weeks, there were weak to moderate correlations between TL and the measured body features of WH, BL_r, BW and BH (Table 5). These morphometric measurements also showed the highest coefficients of determination in the linear regression analysis models that considered only one variable, which made BW, WH, BH and BL_r potential correction factors (Table 7).

WH and BH both measure the height of the animals and were thus very strongly correlated (0.908). It proved to be of greater benefit to use WH as a correction factor instead of BH because the lambs stood better on their forelegs than on their hind legs (humpback, joints not stretched correctly), which could be seen in the better reproducibility of the measurements.

Although the correlation between TL and BL_r was higher than the one between TL and BW (Table 5), and also its coefficient of

Table 4
Measured values for TL, BW, WH and TL/WH in comparison between m, f, mf, mm and ff.

		m (n = 9)	f (n = 12)	mm (n = 11)	ff (n = 21)	mf (n = 35)
TL in cm (\pm SD in cm, CV in %)	Birth	21.80 (\pm 2.90, 13.30)	23.48 (\pm 2.37, 10.09)	20.45 (\pm 1.45, 7.09)	22.10 (\pm 2.14, 9.68)	21.98 (\pm 2.00, 9.10)
	Weaning	34.46 (\pm 4.10, 11.90)	35.88 (\pm 2.70, 7.53)	32.50 (\pm 2.59, 7.97)	34.42 (\pm 4.11, 11.94)	32.76 (\pm 3.24, 9.89)
BW in kg (\pm SD in kg, CV in %)	Birth	5.91 (\pm 1.14, 19.29)	5.90 (\pm 0.76, 12.88)	4.94 (\pm 0.66, 13.36)	5.19 (\pm 0.67, 12.91)	5.70 (\pm 0.71, 12.46)
	Weaning	24.83 (\pm 4.00, 16.11)	23.19 (\pm 2.18, 9.40)	20.25 (\pm 2.87, 14.17)	19.99 (\pm 2.62, 13.11)	20.43 (\pm 2.59, 12.68)
WH in cm (\pm SD in cm, CV in %)	Birth	41.67 (\pm 3.16, 7.58)	41.30 (\pm 1.57, 3.80)	39.75 (\pm 1.78, 4.48)	39.57 (\pm 1.92, 4.85)	40.85 (\pm 2.13, 5.21)
	Weaning	59.41 (\pm 2.75, 4.63)	58.86 (\pm 1.45, 2.46)	56.58 (\pm 1.57, 2.77)	56.84 (\pm 1.88, 3.31)	57.43 (\pm 2.39, 4.16)
TL/WH (\pm SD, CV in %)	Birth	0.524 (\pm 0.067, 12.79)	0.568 (\pm 0.054, 9.51)	0.516 (\pm 0.047, 9.109)	0.558 (\pm 0.046, 8.24)	0.539 (\pm 0.049, 9.09)
	Weaning	0.571 (\pm 0.066, 11.56)	0.609 (\pm 0.040, 6.57)	0.569 (\pm 0.045, 7.91)	0.604 (\pm 0.067, 11.09)	0.568 (\pm 0.049, 8.627)

ARTICLE IN PRESS

K. Eck, et al.

Small Ruminant Research xxx (xxxx) xxx–xxx

Table 5

Development of Pearson correlations between TL and the different morphometric measurements (maximum values underlined).

Measurements	Week									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	average
TL and BW	0.435	0.305	0.415	0.396	0.448	0.469	0.405	0.412	–	0.411
TL and WH	0.336	0.335	0.404	0.453	0.437	0.475	0.424	0.457	0.379	0.411
TL and BH	0.318	0.289	0.349	0.432	0.402	0.453	0.412	0.473	0.360	0.388
TL and BL _r	0.358	0.353	0.451	0.399	0.447	0.460	0.383	0.428	0.424	0.411

Table 6

Development of Pearson correlations of single measurements.

Measurement	Correlation between weeks							
	0–1	0–2	0–3	0–4	0–5	0–6	0–7	0–8
TL	0.943	0.901	0.899	0.881	0.872	0.863	0.856	0.854
BW	0.812	0.742	0.677	0.663	0.657	0.620	0.611	–
WH	0.691	0.694	0.658	0.717	0.664	0.654	0.657	0.663
BH	0.551	0.605	0.603	0.595	0.640	0.625	0.652	0.628
BL _r	0.621	0.529	0.537	0.449	0.405	0.528	0.489	0.404

determination was higher (Table 7), the retest reliability for BL_r was worse than for WH and BH. Consequently, we suggest using BW instead of BL_r as a correction factor in addition to WH. BW has already been used by Carter (1976) and James et al. (1991) to adjust tail length to individual skeletal size but without any additional correction factors.

In our measuring group, the correlation between TL and BW was 0.435 in the first week and 0.412 in the seventh week, but this was lower than 0.518 in the first week and 0.472 in the 14th week in another study on Merinolandschaf lambs (Von Senden genannt Haverkamp et al., 2015). For Hampshire Down, the phenotypic correlation between birth weight and tail length was 0.42 and for Clun Forest 0.48 (Bohte-Wilhelmus et al., 2010). According to Greeff et al. (2015), the phenotypic correlation in Merino sheep was 0.53.

As Von Senden genannt Haverkamp et al. (2015) showed for the Merinolandschaf breed and Bohte-Wilhelmus et al. (2010) for

Hampshire Down and Clun Forest, the birth weight of male lambs was higher than the one of female lambs. In this study, differences in birth weight between genders were not significant ($P > 0.05$) in the *t*-test, but the differences in BW at birth between the five gender-litter groups in an ANOVA procedure were significant ($P < 0.01$) with male singletons being the heaviest (Table 4).

In contrast to these two previous studies, the female lambs in our study had on average longer tails than the male lambs. These differences were without significance ($P > 0.05$) in the *t*-test but significant ($P < 0.05$) in the ANOVA procedure with female singletons having the longest tails (Table 4).

In agreement with Von Senden genannt Haverkamp et al. (2015) and Bohte-Wilhelmus et al. (2010), singleton lambs in this study also had longer tails than multiples. This can be explained by the higher initial body weight and thus bigger body size in singletons compared with multiples.

In the first step of the linear regression analyses, the highest value of $R^2 = 16.18\%$ was obtained when the independent variable WH (Model 1) was used to explain the dependent variable TL. In the second step, adding a second variable to WH, the combination of gender and litter contributed to the highest value of $R^2 = 20.82$ (Model 13). Although adding BL_r (Model 14) instead of BW (Model 15) in the third step would explain more of the variance in TL, it is still of advantage to use BW instead due to the high typical error of BL_r in the repeated measurements. The inclusion of both BW and BL_r in the model (Model 17) would even explain slightly more of the variance in TL. However, we preferred a model without BL_r in order to prevent erroneous results

Table 7

Models in the linear regression analysis and their average coefficients of determination (in %).

Model	dependent variable	independent variables							R^2
		TL	WH	BL _r	BW	BH	Litter	Gender	
1	x	x							16.18
2	x		x						16.11
3	x			x					15.99
4	x				x				14.38
5	x					x			4.40
6	x						x		0.64
7	x							x	7.57
8	x	x	x						19.11
9	x	x		x					18.56
10	x	x			x				15.53
11	x	x				x			16.44
12	x	x					x		19.43
13	x	x						x	20.82
14	x	x	x						22.89
15	x	x		x					22.77
16	x	x			x				20.20
17	x	x	x	x					23.10
18	x	x		x	x				22.16
19	x	x	x	x	x				22.56

ARTICLE IN PRESS

K. Eck, et al.

Small Ruminant Research xxx (xxxx) xxx–xxx

Table 8
Decision criteria for the best measuring time point.

Criteria		Age (in weeks)								Average	
		0	1	2	3	4	5	6	7		8
Changes in Ovicap ^a			16 (+4)	4 (+3)	2 (+4)	(5)	(3)	(3)	(3)	(5)	
Wound from tail docking ^b			+	+	+	+	+	+	–	–	
CV (in %) repeated measure-ments	TL		0.69	0.96	0.98	0.76	0.43	0.65	0.67	0.52	0.72
	WH		1.87	1.21	1.85	1.22	0.98	1.22	0.86	0.73	1.36
R ² in linear regression analysis (Model 15)		21.73	14.78	20.55	25.86	23.72	28.89	22.04	24.59	–	22.77

^a borderline cases in brackets.^b from + +: clearly visible to – -: cannot be seen anymore.

introduced by measurement inaccuracies. Consequently, Model 15 ($R^2 = 22.77\%$), in which the variance of TL is explained by WH, BW and the combination of gender and litter, seems to be the most suitable.

After excluding the morphometric measurements that could not be measured with sufficient accuracy in young lambs or did not have a statistical effect on the dependent variable TL in the regression model, BW and WH remained as suitable body features to correct TL for individual body size in addition to the combination of gender and litter as a fixed effect.

We decided not to use total body length (Shelton, 1977), spinal length (Greeff et al., 2015) or our modified method for measuring the length from the anus to the hock (Scobie and O'Connell, 2002) due to the worse retest reliability compared with WH. In this study, it was also of no benefit to use age (Carter, 1976) as a correction factor because another aim was to identify an optimal time point for measuring and sampling the lambs, i.e. to collect the data at a similar age.

In this respect, it proved favourable to measure and sample lambs instead of adult sheep since they are small, easy to handle and it is still possible to differ between naturally short tails or docked tails with the help of the docking wound. However, for all morphometric measurements, a good retest reliability should already be given.

It has been shown that the number of individuals genotyped to attain a given power can be markedly decreased by a procedure termed "selective genotyping" (Darvasi and Soller, 1992). With selective genotyping, only individuals from the high and low phenotypic extremes are genotyped. However, sporadic tail injuries in the first days of life, as observed in this study, can mimic the shorter tail phenotype (phenocopy) in herds that are not docked routinely and in which emergency docking and/or 'self-docking' (i.e. non-recorded tail necrosis after injuries) is not recorded. Phenotyping errors (e.g. phenocopies) reduce the power in all mapping designs, but they could presumably affect a selective genotyping design more seriously. For example, 8% of short-tailed phenocopies (8 out of 101 in this study) in a design that genotypes 10% of the phenotypic extremes would completely counter-balance the short-tailed group. This emphasizes the importance of phenotyping at an age where phenocopies are still apparent and the main as well as the correlated traits can be measured with high reliability.

Considering all our results, an age of 5 weeks seemed to be the most suitable time point. For tail length, which is the dependent variable of interest, the coefficient of variation in the repeated measurements was already very low in the first four weeks of life but declined even more in weeks five to eight with the lowest value in the fifth week (Table 8). Furthermore, the lambs started to stand still and upright, which resulted in a coefficient of variation in the repeated measurements that was below the average coefficient of variation for the whole measuring period for all sizes (Table 8). Furthermore, there were no more big changes in Ovicap apart from borderline cases (Table 8), and a little crust on the tail-docking wound was still visible to distinguish naturally short tails from docked tails (Table 8). When Model 15 consisting of the variables BW, WH and the combination of gender and litter was used in the linear regression analysis to explain the dependent variable TL, the

fifth week was further confirmed as a very suitable time point for the phenotyping and genotyping since the coefficient of determination R^2 assumed its maximum value of 28.89% here (Table 8).

5. Conclusion

In order to be able to unravel the genetic basis of tail length in sheep, future mapping studies should correct tail length for withers height, body weight and the combination of gender and litter in a linear model. Measuring and sampling should be done on lambs since they are easy to handle and, most importantly, it is still possible to differ between naturally short tails or docked tails with the help of the docking wound. Considering our results, we identified an age of 5 weeks as the optimum time point for collecting reliable measurements.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

Acknowledgments

The authors thank Hermann Stadler for making his sheep available for measuring and sampling. We further thank Elena Kuhnle for the template of her tail measuring device and her and Henrik von Senden genannt Haverkamp for the professional exchange.

Kim Eck was funded by a PhD Research Fellowship from the Tierzuchtforchung e.V. München.

References

- Bohte-Wilhelmus, D.L., De Haas, Y., Veerkamp, R.F., Windig, J.J., 2010. Genetic selection as alternative to tail docking in Hampshire Down and Clun Forest. *Proceedings of the 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*.
- Branford Oldenacu, E.A., Boylan, W.J., 1974. Inheritance of tail length in crossbred finnsheep. *J. Hered.* 65, 331–334.
- Bundesrat, Ausgewählte Tagesordnungspunkte der 973. Sitzung am 14.12.2018. Ferkelkastration. <https://www.bundesrat.de/DE/plenum/bundesrat-kompakt/18/973/973-node.html> (Accessed 10 April 2019).
- Carter, A.H., 1976. Inherited Taillessness in Sheep. New Zealand Ministry of Agriculture and Fisheries. Annual Report of the Research Division. pp. 44–45.
- Darvasi, A., Soller, M., 1992. Selective genotyping for determination of linkage between a marker locus and a quantitative trait locus. *Theor. Appl. Genet.* 85, 353–359.
- DeForest, M.E., Basur, P.K., 1979. Malformations and the Manx syndrome in cats. *Can. Vet. J.* 20, 304–314.
- Fisher, M.W., Gregory, N.G., Kent, J.E., Scobie, D.R., Mellor, D.J., Pollard, J.C., 2004. Justifying the appropriate length for docking lambs' tails: a review of the literature. *Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod.* 64, 293–296.
- Graham, M.J., Kent, J.E., Molony, V., 1997. Effects of four analgesic treatments on the behavioural and cortisol responses of 3-week-old lambs to tail docking. *Vet. J.* 153, 87–97.
- Grant, C., 2004. Behavioural responses of lambs to common painful husbandry procedures. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 87, 255–273.
- Greeff, J.C., Karlsson, L.J.E., Schlink, A.C., 2015. Inheritance of tail length in Merino sheep. *Proc. Assoc. Advmt. Breed. Genet.* 21, 237–240.
- Hager, D., Hoffmann, H.U., Lückhoff, J., 2017. Erfassen der Schwanzlänge. *Schafe-aktuell in Mecklenburg-Vorpommern. Das Informationsblatt von LMS und LSZV* 1. pp. 13–14.
- Hámori, D., 1983. Constitutional disorders and hereditary diseases in domestic animals.

ARTICLE IN PRESS

K. Eck, et al.

Small Ruminant Research xxx (xxxx) xxx-xxx

- Developments in Animal and Veterinary Sciences. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam.
- Hannemann, R., Bauer, B., Ganter, M., Strobel, H., 2017. Schmerzhaftes Eingriffe beim Schaf – Schwanzkupieren. Eine Übersicht. Tierarztl. Prax. Ausg. G. Grosstiere Nutztiere 45. pp. 302–311.
- Hopkins, W.G., 2000. Measures of reliability in sports medicine and science. Sports Med. 30, 1–15.
- James, P.J., Gare, D.R., Singh, A.W., Ancell, P.M., 1990. Studies of the potential for breeding short tail Merinos. Wool Technol. Sheep Breed. 38, 106–111.
- James, P.J., Ponzone, R.W., Gare, D.R., Cockrum, K.S., 1991. Inheritance of short tailedness in South Australian Merinos. Proc. Assoc. Adv. Anim. Breed. Genet. 9, 404–407.
- Kent, J.E., Molony, V., Graham, M.J., 1998. Comparison of methods for the reduction of acute pain produced by rubber ring castration or tail docking of week-old lambs. Vet. J. 155, 39–51.
- Kijas, J.W., Lenstra, J.A., Hayes, B., Boitard, S., Porto Neto, L.R., San Cristobal, M., Servin, B., McCulloch, R., Whan, V., Gietzen, K., Paiva, S., Barendse, W., Ciani, E., Raadsma, H., McEwan, J., Dalrymple, B., other members of the International Sheep Genomics, C., 2012. Genome-wide analysis of the world's sheep breeds reveals high levels of historic mixture and strong recent selection. PLoS Biol. 10, e1001258.
- Kunz, E., Rothhammer, S., Pausch, H., Schwarzenbacher, H., Seefried, F.R., Matiassek, K., Seichter, D., Russ, I., Fries, R., Medugorac, I., 2016. Confirmation of a non-synonymous SNP in PNPLA8 as a candidate causal mutation for Weaver syndrome in Brown Swiss cattle. Genet. Sel. Evol. 48, 21.
- Lester, S.J., Mellor, D.J., Holmes, R.J., Ward, R.N., Stafford, K.J., 1996. Behavioural and cortisol responses of lambs to castration and tailing using different methods. N.Z. Vet. J. 44, 45–54.
- Mason, I.L., 1991. Breed differences in prolificacy of sheep. In: Majjala, K. (Ed.), Genetic Resources of Pig, Sheep and Goat. Elsevier, Amsterdam, pp. 235–241.
- Medugorac, I., Graf, A., Grohs, C., Rothhammer, S., Zagdsuren, Y., Gladys, E., Zinovieva, N., Barbieri, J., Seichter, D., Russ, I., Eggen, A., Hellenthal, G., Brem, G., Blum, H., Krebs, S., Capitan, A., 2017. Whole-genome analysis of introgressive hybridization and characterization of the bovine legacy of Mongolian yaks. Nat. Genet. 49, 470.
- Müller, M.-P., Rothhammer, S., Seichter, D., Russ, I., Hinrichs, D., Tetens, J., Thaller, G., Medugorac, I., 2017. Genome-wide mapping of 10 calving and fertility traits in Holstein dairy cattle with special regard to chromosome 18. J. Dairy Sci. 100, 1987–2006.
- Roesicke, E., Planer, J., 2016. Schaf- und Ziegenrassen vorgestellt. (Accessed 19 September 2018). <https://www.bzfe.de/inhalt/merinoschafe-3224.html>.
- Rothhammer, S., Kremer, P.V., Bernau, M., Fernandez-Figares, I., Pfister-Schär, J., Medugorac, I., Scholz, A.M., 2014. Genome-wide QTL mapping of nine body composition and bone mineral density traits in pigs. Genetics Selection Evolution 46, 68.
- Scobie, D.R., O'Connell, D., 2002. Genetic reduction of tail length in New Zealand sheep. Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod. 62, 195–198.
- Shelton, M., 1977. Studies on tail length of Rambouillet and Mouflon sheep. J. Hered. 68, 128–130.
- Sutherland, M.A., Tucker, C.B., 2011. The long and short of it: a review of tail docking in farm animals. Appl. Anim. Behav. Sci. 135, 179–191.
- Von Senden genannt Haverkamp, H., Brandt, H.R., Erhardt, G., 2015. Variation in der Schwanzlänge beim Merinolandschaf als Basis für züchterische Aktivitäten. Vortragstagung der Deutschen Gesellschaft für Züchtungskunde e. V. und der Gesellschaft für Tierzuchtwissenschaften e. V. Berlin, Germany, C4.

Anhang 2: Phänotypisierungsbogen

Assessment of tail length

Basic information on the animal

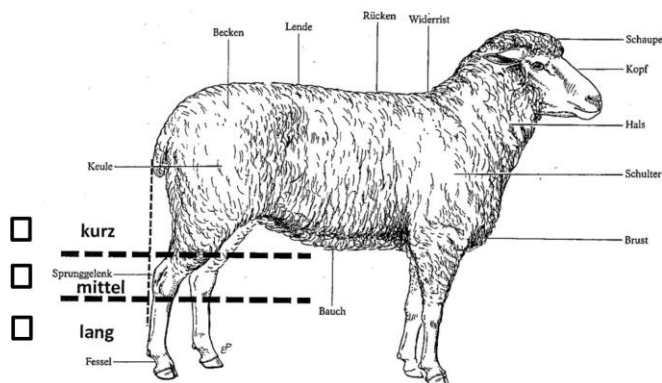
Animal identification number (AIN)	Date of birth	Gender M = male F = female
AIN of the ram	AIN of the ewe	
Current location of the animal	Litter	

Information on samples

Sampling date	Sample taken by
Sample type B = blood H = hair T = tissue	Sample No.

Phenotypic assessment

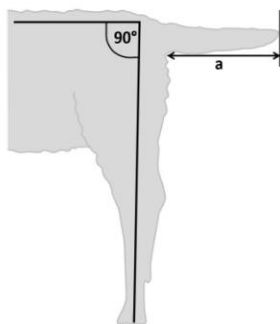
1.) Ovicap



2.) Body weight, back height, withers height and length of the body

Body weight: _____ kg

	back height (in cm)	withers height (in cm)	length of the body (in cm)
rule			

3.) Tail length

	Measuring instructions	Length (in cm)
a	from the anus to the tip of the tail along the ventral surface of the tail	

10 Danksagung

An erster Stelle danke ich der Tierzuchtforschung München e. V. mit ihrem Vorsitzenden Herrn Dr. Ingolf Ruß, die meine Stelle geschaffen und das Projekt finanziert hat.

Bei meinem Doktorvater PD Dr. Ivica Međugorac möchte ich mich ganz herzlich für die Überlassung des Themas und die umfassende Betreuung und Unterstützung während der gesamten Dissertationszeit bedanken.

Mein besonderer Dank gilt meiner Mitbetreuerin und Zimmerkollegin Dr. Elisabeth Kunz, die immer ein offenes Ohr für mich hatte und sich bei allen Problemen stets Zeit nahm und Hilfestellung leistete. Vielen Dank für die kritische Durchsicht der Manuskripte, die fachlichen Ratschläge beim Beprobieren und bei der Arbeit im Büro, die netten Gespräche und die unvergessliche Doktorandenzeit.

Ebenso möchte ich Dr. Sophie Rothhammer danken. In unserer leider nur kurzen gemeinsamen Zeit am Lehrstuhl unterstützte sie mich mit ihrer hilfsbereiten Art bei allen aufkommenden Fragen.

Des Weiteren danke ich Dr. Maulik Upadhyay für die gemeinsame Zeit, mit seiner mitreißenden und begeisterungsfähigen Art wusste er immer zu überzeugen.

Einen besonderen Dank möchte ich auch meiner ehemaligen Zimmerkollegin und Mitdoktorandin Regina Thum für die tolle Zeit, die angenehme Arbeitsatmosphäre und die netten Unterhaltungen aussprechen. Auch meinen weiteren (ehemaligen) internen und externen Mitdoktorandinnen (Nina Dachs, Dr. Kristin Heidrich, Dr. Victoria Göckmann, Fanny Bitzer, Charlotte Friederike Hoffmann und Lena Breitenfellner) möchte ich für eine sehr schöne gemeinsame Zeit danken.

Ebenfalls danke ich ganz herzlich den weiteren Mitarbeitern der AG Populationsgenomik für ihre hilfsbereite und herzliche Unterstützung: Martin Dinkel für seine unermüdliche Hilfe bei Wind und Wetter im Lämmerstall, Renate Damian für die geduldige Bearbeitung des Probenmaterials, Foteini Kyriakou, die mit ihrem morgendlichen Mokka

und ihren Kochkünsten die Arbeitszeit sehr versüßte, Karina Schadt und Rizou Polyxeni, die mir mit ihrer freundlichen Art immer ein Lächeln auf die Lippen zauberten.

Großer Dank gilt auch Hermann Stadler, der die Messungen und Beprobungen für dieses Projekt überhaupt erst möglich gemacht hat. Egal mit welcher neuen Idee wir ankamen, wie wir die Messungen und Beprobungen optimieren wollten, jedes Mal wurde uns eine Möglichkeit eröffnet. Dafür und für die vielen netten Gespräche über Gott und die Welt beim gemeinsamen Mittagessen möchte ich einen großen Dank aussprechen.

Außerdem möchte ich mich bei Prof. Dr. Gesine Lühken bedanken, für die fachliche Hilfe und das Beisteuern von Probenmaterial und Messergebnissen.

Des Weiteren bedanke ich mich herzlich bei meinen Mitdoktoranden Elena Kuhnle (Universität Hohenheim) und Henrik von Senden genannt Haverkamp (Justus-Liebig-Universität Gießen) für die Zusammenarbeit und den fachlichen Austausch.

Ein riesengroßes Dankeschön geht weiterhin an meine Freunde, die meinen Lebensweg begleiten, für ihre Unterstützung in jeder Lebenslage. Danke, dass ich immer auf euch zählen kann!

Und zum Schluss geht der größte Dank an meine Familie. Eure Unterstützung und euer in mich gesetztes Vertrauen, haben mich durch alle Höhen und Tiefen der letzten Jahre begleitet und mich dahin gebracht, wo ich jetzt bin. Danke!